

Research Report from the National Institute for Environmental Studies, Japan. No. 87, 1986.

国立公害研究所研究報告 第87号

# 光化学二次汚染物質の分析とその細胞毒性に関する基礎的研究

Analysis of the Photochemical Secondary Pollutants and their Toxicity on Cultured Cells

昭和53~58年度 総合報告

Research Report in 1978-1983

秋元 肇<sup>1</sup>・嵯峨井 勝<sup>2</sup>・久保田憲太郎<sup>2</sup> 編

Edited by H. AKIMOTO<sup>1</sup>, M. SAGAI<sup>2</sup> and K. KUBOTA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>大気環境部

<sup>1</sup>Atmospheric Environment Division

<sup>2</sup>環境生理部

<sup>2</sup>Basic Medical Sciences Division

環境庁 国立公害研究所

THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

国立公害研究所研究報告 第87号

タイトル：光化学二次汚染物質の分析とその細胞毒性に関する  
基礎的研究

R-87 正 誤 表

ページ	行	誤	正
11	表2	molor %	molar
13	表3	( <sup>o</sup> )-, ( <sup>m</sup> )-, ( <sup>p</sup> )-	<i>o</i> -, <i>m</i> -, <i>p</i> -
21	英文タイトル	Socondary	Secondary
33	下から8, 9行	湿気除去, <u>トラップ</u>	湿気除去トラップ
56	1行 式番号	(16)	(15a)
"	脚注中式	+ 1 × 0.06	+ 1 × 0.60
"	脚注下から2行	が及	及び
59	表3注c)	was	were
62	表4	<u>Rerry et al.</u>	<u>Perry et al.</u>
63	下から13行	- 2 - ブ <u>チ</u> ンジアール	- 2 - ブ <u>テ</u> ンジアール
65	7行	この <u>値</u> の説明	この <u>値</u> を説明
68	下から9行	分析を	分析結果を
"	下から7行	- 2 - ブ <u>テ</u> ンアール	- 2 - ブ <u>チ</u> ンジアール
69	下から5行	<u>例</u> 記した。	<u>列</u> 記した。
71	表6, 5行	0.64 ± <u>0.0</u>	0.64 ± <u>0.03</u>
"	表6, 7行	9の列に0.64 ± 0.0	0.64 ± 0.03をAve.の列に
72	13行	0.20 : 0.40 : 0.40	0.13 : 0.40 : 0.47
75	下から3行	置換の	置換 <u>基</u> の

## 序

1970年7月18日、東京都杉並区で発生した光化学スモッグによる被害は、新聞等に大きく報道され、人々の関心を集めた。同時に、光化学スモッグによって何らかの障害を訴えた人は全国で年間5万人を越える程であったが、1976年以降被害者数は急激に低下し、1981～82年頃は1～2千人程度に減少した。現在では、1970年頃の大勢の被害者を出した事件はほとんど忘れ去られようとしている。しかし、1984年には光化学スモッグによる被害者が5千名を越え、光化学スモッグ注意報の発令回数も最近では増加の傾向がみられている。特に最近では、光化学スモッグによる被害はこのような急性被害ばかりでなく、オゾンによる発がん性が報告される等、その遅発的影響が大きな問題となりつつある。本報告書はこのような時宜を得て、これまで国立公害研究所で行われてきた光化学二次生成物の細胞毒性試験の結果をとりまとめたものである。

さて、大気中で強い太陽光の直射の下、窒素酸化物と炭化水素の存在下でオゾンやパーアセチルナイトート(PAN)をはじめとする多くの二次汚染物が生成する光化学反応については、国立公害研究所の光化学スモッグチャンバーを用いて研究が進められている。また、低濃度の窒素酸化物やオゾンの単一ガス及び複合ガスの高等動物に及ぼす慢性的な生体影響については、ズートロン動物用暴露チャンバーを用いて、多くの知見が得られ、所外へも既に発表されている。

しかるに、光化学反応は極めて複雑であって、二次生成物はそれぞれ微量ながら極めて多種類である。それらは特に炭化水素の種類によって大きく変化する。土浦市街等で実際に採取した空気を分析してもこのことは明らかである。これに加えて、ラット等の高等動物を用いて生体影響を調べるには、装置が大がかりになり、また結果が出るまでに長期間を要し、さらには個体差の影響の判別など様々な困難がある。発がん性などの研究においてはなおのことである。

一方、光化学スモッグの発がん性とか変異原性を調べるために、細胞にこれを直接暴露する簡便な方法の開発が望まれていた。ここでは小型の光化学反応チャンバーと培養細胞ガス暴露装置とを直結して、細胞の乾燥を防ぎながら、直接光化学二次生成ガスに細胞を暴露するシステムを開発した。さらに、このシステムによるチャイニーズ・ハムスターの肺由来細胞を用い、増殖抑制や姉妹染色分体交換が発現するかどうかを調べた。前者は細胞毒性の指標であり、後者は細胞遺伝毒性の指標であり、発がん性や変異原性に関係がある。その結果、光化学二次汚染物質は窒素酸化物やオゾンの単一ガス暴露の場合よりもかなり強い細胞毒性や遺伝毒性があることが明らかになった。

現在さらに、ラット等の高等動物用連続暴露装置の開発を進めている。このような研究は化学者と生理学者の協力が必要であるが、当研究所では大気環境部、環境生理部、技術部の協力を得て、10年間にわたって研究を行ってきたものである。この研究を高等動物にまで推進するには、今後も

更に多くの努力を必要とするが、これまでの研究の総合報告として、ここに取りまとめて発表する次第である。

昭和60年9月

国立公害研究所

所長 近藤次郎

# 目 次

I. 研究の目的と経緯 .....	1
秋元 肇・久保田憲太郎	
II. 研究成果の総括	
1. 光化学二次汚染物質の化学組成 ——芳香族炭化水素の光酸化反応—— .....	9
秋元 肇	
2. 光化学二次汚染物質の培養細胞に及ぼす生物学的影響 .....	17
白石不二雄	
3. 光化学二次汚染物質の動物暴露実験用チャンバーの作製について .....	21
嵯峨井勝	
III. 報 文	
1. 長光路赤外分光型光化学チャンバーの製作と 光化学スモッグ・シミュレートガスの培養細胞暴露システムの開発 .....	23
白石不二雄・坂東 博・秋元 肇	
2. 芳香族炭化水素の光酸化反応機構 .....	39
坂東 博・鷺田伸明・秋元 肇	
3. 培養細胞に及ぼす光化学スモッグ・シミュレートガスの 細胞遺伝毒性に関する研究 .....	85
白石不二雄・坂東 博・橋本 訓	
4. 動物暴露用フロータイプ光化学チャンバーの製作と予備的研究 .....	103
鈴木 明・局 博一	
資 料 研究成果発表一覧 .....	115

## CONTENTS

I. Aims and Outline of the Project .....	1
H. AKIMOTO and K. KUBOTA	
II. Summary and Significance of the Results	
1. Chemical Compositions of Photochemical Secondary Pollutants	
—Photooxidation of Aromatic Hydrocarbons— .....	9
H. AKIMOTO	
2. Biological Effects of Photochemical Secondary Pollutants	
on Cultured Cells .....	17
F. SHIRAIISHI	
3. Construction of Chamber System for Photochemical Secondary	
Pollutant Exposure to Experimental Animals .....	21
M. SAGAI	
III. Papers	
1. Photochemical Reaction Chamber with a Long-path Infrared Spectrometer	
and an Exposing System for Cultured Cells to Photochemical	
Smog-Simulated Gases .....	23
F. SHIRAIISHI, H. BANDOW and H. AKIMOTO	
2. Reaction Mechanisms for the Photooxidation of Aromatic Hydrocarbons .....	39
H. BANDOW, N. WASHIDA and H. AKIMOTO	
3. Study of Cytogenotoxicity on Cultured Cells by Exposures	
to Photochemical Smog-Simulated Gases .....	85
F. SHIRAIISHI, H. BANDOW and S. HASHIMOTO	
4. Availability of "Flow-Type" Photochemical Chamber	
as an Exposure System for Small Animals .....	103
A. K. SUZUKI and H. TSUBONE	
APPENDIX List of Publications .....	115

## I 研究の目的と経緯 Aims and Outline of the Project

秋元 肇<sup>1</sup>・久保田憲太郎<sup>2</sup>.  
Hajime AKIMOTO<sup>1</sup> and Kentaro KUBOTA<sup>2</sup>

我が国の光化学スモッグ問題は、昭和45年ごろ初めて人体被害が報告され、特に同年7月18日の東京杉並・立正高校生徒による重篤かつ急性障害例の報告を契機として、にわかに社会的注目を集めることになった。図1には昭和45年から最近まで過去15年間の我が国における届出被害者数及び光化学スモッグ注意報発令延日数の推移を示した<sup>1)</sup>。図にみられるように光化学スモッグ注意報発令延日数、被害者数は昭和51年以降減少傾向を続けてきたが、最近の2年間は再び増加の兆しを見せている。

光化学スモッグによると思われる臨床症状については、多くの文献<sup>2-10)</sup>にまとめられているが、その主なものは局所粘膜刺激症状、全身症状、神経症状、末しょう血管拡張症状に大別されている<sup>2)</sup>。立正高校の例では自覚症状として、眼痛・流涙98%、咳61%、呼吸困難69%等局所粘膜刺激症状は大半の生徒が訴えた。全身症状としては頭痛・めまい39%、吐気・おう吐14%、悪寒・発熱23%、倦怠感25%など、さらに神経症状として、しびれ感23%、けいれん11%、意識障害7%などが報告されている<sup>2)</sup>。同様に昭和50年7月15日の大宮市M中学の例でも、眼痛60%、息苦しさ49%、咽頭痛47%、咳34%、などの眼・気道粘膜刺激症状の他、倦怠感22%、頭痛17%、吐気4%などの全身症状が報告されている<sup>9)</sup>。

光化学スモッグによるこれら多くの急性障害のうち、現在その因果関係が明らかになっているのはオゾンによる気道粘膜刺激症状のみである<sup>11,12)</sup>。このようなことから米国においては光化学スモッグの環境指標としてはオゾンのみが選択され、その環境基準が定められているのが実状である。これに対し光化学スモッグによる一般的な急性障害と考えられる上記の全身症状、及び我が国で特徴的に報告された上記の神経症状については、その原因物質はいまだ特定されていない<sup>13,14)</sup>。これら重篤な症状を伴う急性障害例は表1<sup>10)</sup>にみられるように各地で報告され<sup>13,14)</sup>、大きな社会的関

- 
1. 国立公害研究所 大気環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2  
Atmospheric Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
  2. 国立公害研究所 環境生理部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2  
Basic Medical Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

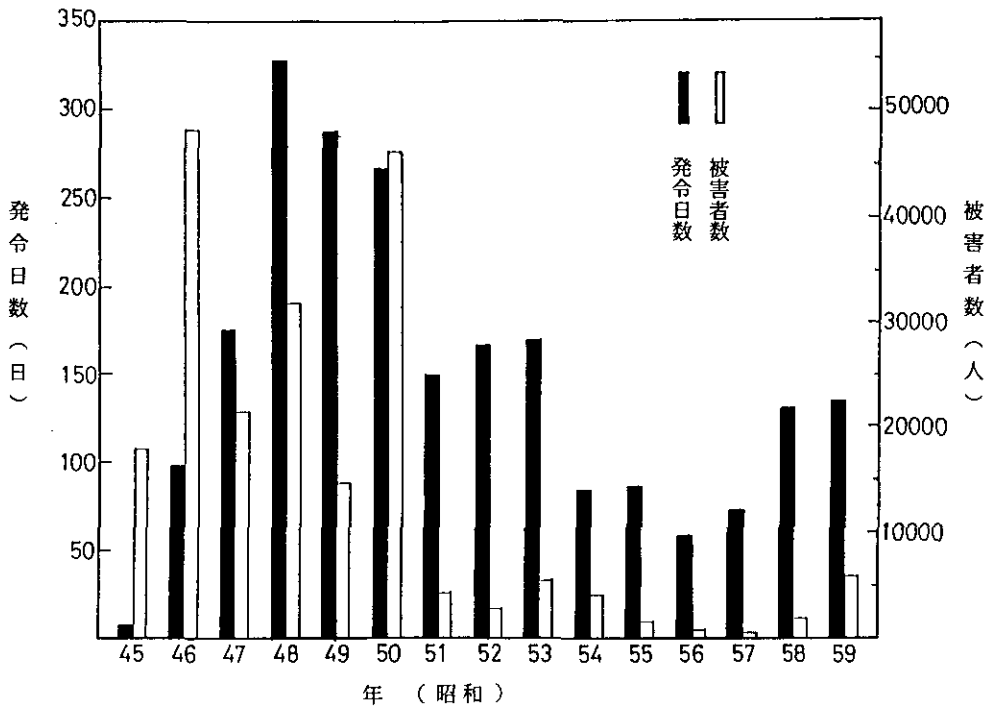


図 1 昭和45年から59年までの光化学スモッグ注意報発令延日数（都府県単位）及び光化学スモッグ被害者数<sup>1)</sup>

心を呼んだにもかかわらず、臨床知見のみからは原因物質を推定できず、その解明のためには実験室内における毒性学的研究が必要とされている。

光化学スモッグの人体被害に関連して、最近その重要性が認識されつつあるもうひとつの問題は、その変異原性や発がん性に関する問題である。光化学関連物質の内でおゾン、ホルムアルデヒド、エポキシサイド、ニトロアレール、多環芳香族化合物などについては既に変異原性ないしはがん原性（発がん性）が報告されている<sup>11,12,15-18)</sup>。特に最近、光化学スモッグの主成分であるオゾンについてその発がん性が報告されたことは、今後光化学スモッグの遅発的影響面からの影響評価がますます重要であると考えられる。

光化学スモッグについては単に生成機構面での解明だけでなく、これら急性的、慢性的人体影響と光化学二次汚染物質との因果関係が解明されなければ、この問題が真に解決されたとはいえないであろう。特に、我が国における神経症状を含む重篤急性影響は未解明のままの状態に置かれている。これは因果関係の実証を目的とした高等動物に対する光化学二次生成物の暴露実験がほとんど行われていないことに起因するものと思われ、単一物質としてのオゾンの毒性が人間を含む暴露実験により良く研究されているのとは対照的である。この目的でのマウスを用いた暴露実験は我が国で中島ら<sup>19,20)</sup>により行われ光化学二次汚染物質に対する血液性状の変化、自律神経機能への影響



表 1 光化学スモッグによると思われる人体被害例  
(文部省環境科学特別研究報告<sup>13)</sup>より引用)

年月日	学 校	都 市	症 状	注参照
39.7.11	富士見中	川越	手のしびれ, 呼吸困難(1)	
44.5.15	青戸中	東京葛飾	呼吸困難, けいれん	
45.6.28		木更津等	呼吸困難	
7.18	立正(中高)	東京杉並	しびれ, けいれん, 呼吸困難	⑥
〃	西中, 芝中, 青木中	川口	呼吸困難	
8.5	鶴川高	町田		
46.8.8	桜水高	東京杉並	四肢硬直	
8.21	磯子高	横浜	しびれ	①
8.27	高石中	大阪高石	しびれ, せき込み, 呼吸困難	④ ⑦
〃	羽衣学園	〃	せき込み, 目が見えない, しびれ	
47.5.12	石神井南中の始まり	東京練馬	チアノーゼ, しびれ, 脱力, 倒れる	
5.26	石神井南中・石神井中	〃	しびれ, 硬直, チアノーゼ	⑥
6.1	大森一中	東京大田	しびれ, けいれん, 倒れる	⑤
6.2	石神井南中・大泉中	東京練馬	手足しびれ	
6.22	清瀬中	清瀬	一人全身けいれん	⑥
7.1	太子堂中	東京世田谷	呼吸困難, しびれ	
7.29	大森一中	東京大田	手足しびれ	
7.30	東京女子体育大	小金井	手足しびれ	⑥ ②
8.5	藤村学園	武蔵野	手足けいれん, しびれ	⑥ ②
8.17	大山高	東京板橋	筋硬直, せき込み	⑥
〃	大谷場中	浦和		
10.3	守口第4中	大阪	手足のしびれ, めまい, 意識もうろう	③
48.5.15	三鷹5中	三鷹	呼吸困難, けいれん, 倒れる	
6.21	サレジオ学園	東京目黒	四肢けいれん	
49.5.18	船橋三田中	船橋	呼吸困難	
49.11.26	大安中	三重大安	しびれ, けいれん	
50.5.30	鶴川高	町田	四肢しびれ, 呼吸困難, 意識喪失	
	新島中	佐原	手足のしびれ	

- (注) ① 宍戸昌夫他：光化学大気汚染によると思われる某工業高校生の人体被害について，横浜医学，**23**，205～209（1972）
- ② 守尾野公義他：いわゆる光化学スモッグ症による神経障害の疫学的，臨床的，臨床病理学的研究，東京都衛生局，昭和48年度臨床研究紀要，232～239（1974）
- ③ 松村忠雄他：守口市において発生した光化学スモッグによると思われる被害の臨床，日本臨床，**31**，154～168（1973）
- ④ 足立豊彦他：大阪における光化学スモッグの臨床，小児科診療，**36**，154（1973）
- ⑤ 荒記俊一他：いわゆる「光化学スモッグ（東京スモッグ）症」の集団発症症例にみられた呼吸性アルカリローシス，日公衛誌，**21**，75～80（1974）
- ⑥ 三上理一郎，：病態いわゆる光化学スモッグの臨床，日胸疾会誌，**11**（12），723～736（1973）
- ⑦ 足立豊彦他：光化学スモッグによる重症被害と臨床検査，臨床化学，**3**（3），257～267（1974）

などが調べられている。

他方光化学スモッグの変異原性に関しても、従来オゾン、その他いくつかの単一物質以外については、ほとんど研究が行われていなかったが、本研究と相前後して最近、トルエン及びプロピレンからの光化学二次生成混合物の変異原性テスト結果が報告される<sup>21,22)</sup>など、この方面の研究も緒についたところといえる。

光化学二次生成物の生体暴露実験の困難さの一因は、生成混合物の組成分析の困難さである。光化学二次汚染物質の同定はそれ自身重要な研究対象であり、多成分にわたる生成混合物の組成分析を行って、生体暴露実験を価値あるものとするためには、反応化学分析化学の研究者と生物系・医学系研究者との協力が不可欠である。

このような観点から国立公害研究所においては、大気環境部と環境生理部が協力して光化学スモッグ中の生成物の同定とその生体影響を研究する所内共同研究が提案された。研究は当初、昭和51年6月第44回部長会議において、所内プロジェクト研究として承認されて発足し、さらに昭和53～58年には経常研究「光化学二次汚染物質の分析とその細胞毒性に関する基礎的研究」に発展した。第1期(昭和51～52年)の研究では当時我が国の都市大気中に、ロスアンジェルス等に比較して高濃度で存在することが報告されていた芳香族炭化水素に注目し、その光化学反応生成物の同定を行うとともに、そこで見いだされた各種の光化学二次生成物をそれぞれ単独で水溶液として、培地に溶解し、培養細胞への影響を調べた。その成果は国立公害研究所研究報告第5号、「芳香族炭化水素-窒素酸化物系の光酸化反応機構と光酸化二次生成物の培養細胞に及ぼす影響に関する研究—昭和51/52年度研究報告」として昭和53年10月にまとめられた。同報告書では今後の研究の方向として、光化学二次汚染物質をガス状のまま培養細胞に暴露する方法の確立、及び光化学反応混合物の全体の毒性評価をするための生成物分析と暴露を同時に行える細胞暴露システムの製作が提案された。

本研究ではこれを受けて、まず、最初にフーリエ変換赤外分光光度計を組み込んだ内容積約790lの真空排気型光化学反応チャンバー、及び培養細胞ガス暴露装置を製作し、それぞれの性能試験を行った後、これらを連結して光化学二次生成物培養細胞暴露システムを完成した。光化学二次生成物の分析実験としては、前プロジェクトに引き続きパラフィン系炭化水素、オレフィン系炭化水素に比べ研究の遅れていた芳香族炭化水素を取り上げ、トルエン、キシレン、トリメチルベンゼン類についてその反応生成物と生成機構を詳しく研究した。他方培養細胞暴露実験では、チャイニーズハムスターの肺由来のV79細胞を用いて、光化学スモッグ・シミュレートガス(光化学反応混合物)の生体影響を増殖抑制作用による細胞毒性及び姉妹染色分体交換(SCE)の誘発による細胞遺伝毒性の二つを指標として詳しく研究した。

光化学スモッグ・シミュレートガスとしてはプロピレン-NO<sub>x</sub>系光化学反応混合物及びトルエン-NO<sub>x</sub>系光化学反応混合物を用い、細胞毒性及び細胞遺伝毒性について両者の生体影響を比較するとともに、オゾン、NO<sub>2</sub>の単独暴露による影響との比較検討を行い、光化学スモッグ・シミュレートガスの培養細胞への影響を明らかにした。

さらに本研究では光化学二次生成物の実験病理学的毒性研究を細胞レベルから、実験動物へ発展させるため、動物暴露用フロータイプ光化学チャンバーを製作し、これを用いてラットに対する生体影響の研究を開始した。本研究における動物暴露実験は予備的段階であるが、プロピレン-NO<sub>x</sub>系の光化学反応混合物をラットに暴露し、呼吸様式、心拍数に対する影響が調べられた。実験動物に対する生体影響の研究は引き続き昭和59年度から開始された経常研究「光化学二次汚染物質の生体影響に関する実験的研究」に引き継がれ、より重点的に研究が行われている。光化学スモッグ問題を真に解明するための人体影響に至る研究の道のりは長いが、実験動物を用いた毒性学的研究による基礎データの積み上げが、光化学スモッグの正体を明らかにする上での有用な知見を提供するものと信ずる。

本報告では以下の第Ⅱ章に研究成果の概要と意味づけを述べ、第Ⅲ章においては個々の成果を報文の形にまとめた。

## 研究組織

### プロジェクトリーダー

#### 大気環境部長

奥田典夫（昭和53.4～56.3）\*

#### 環境生理部長

久保田憲太郎（昭和56.4～61.3）

### プロジェクト参加者

#### 大気環境部・大気化学研究室

坂東 博・橋本 訓・鷺田伸明・秋元 肇

#### 環境生理部・環境病理研究室

白石不二雄・村上正孝

#### 環境生理部・環境生理研究室

鈴木 明・局 博一

#### 環境生理部・慢性影響研究室

嵯峨井勝・市瀬孝道

#### 技術部・生物施設管理室

松本 茂

#### 技術部・動物施設管理室

高橋 弘

---

\* 昭和56年8月10日逝去

## 引用文献

- 1) 環境庁 (1985): 昭和60年版環境白書
- 2) 三上理一郎・工藤翔二 (1973): わが国におけるいわゆる光化学スモッグによる急性障害. 日本臨床, **31**, 2039-2047.
- 3) 三上理一郎 (1973): 4) 病態, いわゆる光化学スモッグの臨床. 日本胸部疾患学会誌, **11**, 723-736.
- 4) 松村忠樹・坂本吉正・岩瀬師子・海老名亮二・小山正人・西岡研哉・杉山 誠・竹岡和子・米井一郎・二野村吉彦・糸田川美知子・久保貴子・上野靖子・河井泰子 (1973): 守口市において発生した光化学スモッグによると思われる被害の臨床. 日本臨床, **31**, 2070-2084.
- 5) 足立豊彦・長谷川勝彦・宮本貴子・井上八寿栄・上辻秀和・河 敬世・田村凱夫・林田道昭 (1973): 大阪における光化学スモッグの臨床. 小児科診療, **36**, 307-312.
- 6) 足立豊彦・中島泰知 (1974): 光化学スモッグによる重症被害と臨床検査. 臨床化学, **3**, 257-267.
- 7) 荒記俊一・阿万忠之・牛尾耕一・本間徹男 (1974): いわゆる「光化学スモッグ (東京スモッグ) 症」の集団発生症例にみられた呼吸性アルカローシス. 日本公衛誌, **21**, 75-80.
- 8) 牧野国義・溝口 勲 (1975): 光化学スモッグによる自覚症調査について. 日本公衛誌, **22**, 421-430.
- 9) 工藤翔二・三上理一郎・溝口 勲・小久保雅子・今関鎮徳 (1977): 大宮市 M 中学におけるオキシダント高濃度下の自覚症状発現の特徴—とくに屋外運動との関連について—. 大気汚染研究, **11**, 456-462.
- 10) 溝口 勲・三上理一郎・工藤翔二・小久保雅子・今関鎮徳 (1977): 埼玉県における光化学スモッグ被害届け出と環境条件との関連. 大気汚染研究, **11**, 485-492.
- 11) Committee on Medical and Biological Effects of Environmental Pollutants (1977): Ozone and Other Photochemical Oxidants. National Academy of Sciences. Washington D. C.
- 12) Menzel, D. B. (1984): Ozone: An overview of its toxicity in man and animal. J. Toxicol. Environ. Health, **13**, 183-204.
- 13) 文部省環境科学特別研究環境科学総合班 (1981): “いわゆる光化学スモッグ事件” について. 窒素酸化物対策に関する総合的検討班報告, 環境科学研究報告書, B116-S409.
- 14) 環境庁大気保全局 (1972): 光化学反応による大気汚染関係資料—事例集—.
- 15) Temcharoen, P. and W. G. Thilly (1983): Toxic and mutagenic effects of formaldehyde in *Salmonella typhimurium*. Mut. Res., **119**, 89-93.
- 16) McCaun, J., E. Choi, E. Yamasaki and B. N. Ames (1975): Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella* / microsome test: Assay of 300 chemicals. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., **72**, 5135-5139.
- 17) 常盤 寛 (1983): ニトロアレンの変異原性と発癌性. 代謝, **20**, 3-11.
- 18) Pitts, J. N. Jr., K. A. V. Cauwenberghe, D. Grosjean, J. P. Schmid and D. R. Fitz (1978): Atmospheric reactions of polycyclic aromatic hydrocarbons: Facile formation of mutagenic nitro derivatives. Science, **202**, 515-519.
- 19) 楠本繁子・成山康子・米川恵都子・織田 肇・中島泰知 (1976): 光化学オキシダントおよびオゾン短時間暴露のマウスに及ぼす影響. 大気汚染研究, **11**, 70-80.
- 20) 楠本繁子・織田 肇・野上浩志・中島泰知 (1983): 光化学オキシダントおよびオゾン短時間暴露のマウスの血液並びに直腸温に及ぼす影響. 大気汚染学会誌, **18**, 444-452.

- 21) Shepson, P. B., T. E. Kleindienst, E. O. Edney, G. R. Naimie, J. H. Pittman, L. T. Cupitt and L. D. Claxton (1985): The mutagenic activity of irradiated toluene/NO<sub>x</sub>/H<sub>2</sub>O/air mixtures. Environ. Sci. Technol., **19**, 249-255.
- 22) Kleindienst, T. E., P. B. Shepson, E. O. Edney, L. T. Cupitt and L. D. Claxton (1985): The mutagenic activity of the products of propylene photooxidation. Environ. Sci. Technol., **19**, 620-627.

## Ⅱ 研究成果の総括

### Summary and Significance of the Results

#### Ⅱ-1 光化学二次汚染物質の化学組成

##### Chemical Compositions of Photochemical Secondary Pollutants—Photooxidation of Aromatic Hydrocarbons—

秋元 肇<sup>1</sup>

Hajime AKIMOTO

光化学二次汚染物質は大気中における炭化水素—窒素酸化物—硫黄酸化物混合系の光酸化反応で生成するものであるから、その化学組成は一般に一次汚染物質として含まれる有機化合物の種類によって異なる。したがって光化学スモッグ中の二次汚染物質を詳しく予測するためには、汚染大気中に一次汚染物質として含まれる有機化合物の組成を明らかにするとともに、それら個々の化合物から光酸化反応で生成する生成物を実験室的に同定、定量し、その生成機構を明らかにすることが必要である。都市大気中に一般的に含まれる有機化合物としては飽和炭化水素、オレフィン系炭化水素、芳香族炭化水素、アセチレン、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド等が主であるが、本研究では従来研究の遅れていた芳香族炭化水素を取り上げ、光酸化反応生成物、生成機構について研究した。表1、2はそれぞれ茨城県土浦市で採取した環境大気中の個々の炭化水素成分組成比、タイプ別組成比もまとめたものである<sup>1)</sup>。表にみられるようにベンゼン、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素は環境大気中の炭化水素の20—47mol%を占めており、その比率は一般に夏期に高いことがわかる。

#### 1 芳香族炭化水素の光酸化反応機構

芳香族炭化水素-窒素酸化物-空気系の光酸化反応については、従来主としてガスクロマトグラフ(GC)及びガスクロマトグラフ-質量分析計(GC-MS)を用いた研究が行われており<sup>2-5)</sup>、次のようなことが知られている。

(1) 大気中における芳香族炭化水素の光酸化反応は主として $\cdot\text{OH}$ ラジカルの反応で開始され、

---

1. 国立公害研究所 大気環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町16番2  
Atmospheric Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

表 1 汚染大気中\*の炭化水素組成例 (mol%)  
(国立公害研究所研究報告 第59号<sup>1)</sup>より引用)

Carbon Number	Compounds	K-1 800303	K-2 800305	K-3 800307	K-9 810316	K-10 810318	K-11 810323	Average
<b>Paraffins</b>								
C <sub>2</sub>	Ethane	5.83	7.86	4.50	13.04	8.71	6.85	7.80
C <sub>3</sub>	Propane	8.83	9.13	7.06	6.79	6.77	5.00	7.26
C <sub>4</sub>	<i>i</i> -Butane	2.30	2.13	1.25	2.31	2.29	1.97	2.04
	<i>n</i> -Butane	5.63	4.36	3.10	4.86	4.90	4.15	4.50
C <sub>5</sub>	<i>i</i> -Pentane	4.51	4.36	5.74	4.91	5.80	5.74	5.18
	<i>n</i> -Pentane	2.94	2.84	3.52	3.05	3.80	3.45	3.27
C <sub>6</sub>	2-Methyl Pentane ) 3-Methyl Pentane )	5.68	4.74	6.88	4.53	6.05	5.95	5.64
	<i>n</i> -Hexane	2.09	2.25	2.58	1.69	2.39	2.23	2.22
	Methylcyclopentane	0.41	0.37	0.58	0.31	0.31	0.33	0.39
	Cyclohexane	0.16	0.05	0.10	0.07	0.12	0.08	0.10
C <sub>7</sub>	2-Methylhexane	0.80	0.71	1.11	0.50	0.62	0.68	0.74
	2,3-Dimethylpentane	0.19	0.17	0.29	0.07	0.12	0.13	0.16
	3-Methylhexane	0.82	0.77	1.14	0.55	0.69	0.77	0.79
	<i>n</i> -Heptane	1.23	1.15	1.24	0.98	0.77	0.99	1.06
C <sub>8</sub>	Methylcyclohexane	0.26	0.14	0.15	0.10	0.11	0.11	0.15
	2-Methylheptane	0.33	0.28	0.37	0.26	0.23	0.30	0.30
	4-Methylheptane	0.09	0.09	0.13	0.10	0.09	0.11	0.10
	3-Methylheptane	0.38	0.30	0.47	0.29	0.31	0.37	0.35
C <sub>9</sub>	<i>n</i> -Octane	1.16	0.71	0.55	0.83	0.40	0.60	0.71
	3, 5-Dimethylheptane	—	—	0.06	0.17	0.09	0.08	0.10
	2-Methyloctane	0.08	0.09	0.09	0.07	0.06	0.06	0.18
	3-Methyloctane	0.10	0.12	0.37	0.10	0.08	0.08	0.14
C <sub>9</sub>	<i>n</i> -Nonane	0.20	0.37	0.18	0.29	0.15	0.16	0.23
	Sub-total	43.42	42.98	41.46	45.86	44.87	40.29	43.15
<b>Olefins</b>								
C <sub>2</sub>	Ethylene	16.10	14.73	16.68	17.35	15.29	17.93	16.35
C <sub>3</sub>	Propylene	4.08	3.26	3.44	2.88	3.23	3.65	3.42
C <sub>4</sub>	1-Butene	0.13	0.12	—	—	—	—	0.13
	1,3-Butadiene	—	—	—	0.31	0.25	0.42	0.33
C <sub>4</sub>	<i>i</i> -Butene	0.27	0.26	—	—	—	—	0.20
	1-Pentene	—	—	—	0.14	0.18	0.20	0.17
C <sub>4</sub>	Sub-total	20.58	18.37	20.12	20.69	18.95	22.20	20.15
<b>Aromatics</b>								
C <sub>6</sub>	Benzene	2.96	3.28	3.51	3.00	2.86	3.11	3.12
C <sub>7</sub>	Toluene	12.00	11.31	9.28	6.39	7.93	6.87	8.96
C <sub>8</sub>	Ethylbenzene	1.21	2.54	1.68	1.14	1.29	1.15	1.50
	<i>p</i> -Xylene	0.79	1.25	1.34	1.00	1.06	1.08	1.09
C <sub>8</sub>	<i>m</i> -Xylene	2.14	3.22	3.58	2.26	2.49	2.59	2.71
	<i>o</i> -Xylene	0.84	1.34	1.59	1.29	1.43	1.46	1.33
C <sub>9</sub>	<i>i</i> -Propylbenzene	—	—	—	0.14	0.09	0.03	0.09
	<i>n</i> -Propylbenzene	0.12	0.09	0.13	0.14	0.14	0.23	0.14
	1-Methyl-4-Ethylbenzene	0.17	0.37	0.51	0.81	0.88	0.86	0.60
	1-Methyl-3-Ethylbenzene	0.12	0.14	0.19	0.31	0.37	0.33	0.24
	1-Methyl-2-Ethylbenzene	0.08	0.09	0.08	0.24	0.31	0.29	0.18
	1,3,5-Trimethylbenzene	0.06	0.09	0.24	0.52	0.43	0.46	0.30
	1,2,4-Trimethylbenzene	0.12	0.26	0.42	1.29	1.22	1.19	0.75
	1,2,3-Trimethylbenzene	—	—	—	—	0.25	0.23	0.24
C <sub>9</sub>	Sub-total	20.60	23.98	22.54	18.55	20.75	19.87	21.05
<b>Acetylene</b>								
C <sub>2</sub>	Acetylene	15.41	14.67	15.88	14.90	15.42	17.65	15.66
Total		100.01	100.0	100.0	100.0	99.99	100.01	100.01

\*茨城県土浦市 午前8時～8時30分サンプル

表 2 汚染大気中\*の種類別炭化水素組成例

Sample	Hydrocarbon Composition (molar %)					$\Sigma$ [HC] <sub>o</sub> ppb
	Paraffin	Olefin	Aromatics	Acetylene	Unknown	
K-1 (80-3-3)	43.4	20.7	20.5	15.4	n.d.	86.1
K-2 (80-3-5)	43.1	18.7	23.3	14.9	n.d.	57.4
K-3 (80-3-7)	41.7	20.6	22.1	15.6	n.d.	118.8
K-4 (80-7-28)	41.5	10.7	35.7	12.1	n.d.	23.7
K-5 (80-7-30)	38.4	15.0	33.9	12.8	n.d.	31.2
K-6 (80-8-1)	40.8	16.4	29.5	13.4	n.d.	29.6
K-7 (80-8-5)	49.9	12.9	27.9	9.3	n.d.	28.2
K-8 (80-8-7)	36.1	16.1	35.0	12.8	n.d.	55.5
K-9 (81-3-16)	44.7	20.2	18.1	14.5	2.6	43.1
K-10 (81-3-18)	43.8	18.5	20.3	15.1	2.4	66.6
K-11 (81-3-23)	39.6	21.8	19.5	17.3	1.8	80.3
K-12 (81-7-27)	37.6	14.4	37.6	9.0	1.3	25.6
K-13 (81-7-29)	34.3	11.7	46.8	6.0	1.2	40.7

\*茨城県土浦市 午前8時～8時30分サンプル, n.d 検出限界以下  
サンプル番号は表1と共通。

反応生成物は大きく分け、ベンゼン環の酸化による生成物、側鎖の酸化による生成物、ベンゼン環開裂による酸化生成物の3種類である。

(2) ベンゼン環の酸化反応生成物としてはフェノール(クレゾール)類、ニトロフェノール(クレゾール)類及びニトロベンゼン類が生成される。

(3) 側鎖の酸化反応生成物としては環状アルデヒド(ベンズアルデヒド)類及び少量の環状硝酸エステル(ベンジルナイトレート、パーオキシベンゾイルナイトレート)類が生成される。

(4) ベンゼン環開裂による酸化反応生成物としてはグリオキザール、メチルグリオキザール、バイアセチルが生成される。

(5) これらの三つの型の反応の内、側鎖の酸化とベンゼン環の酸化は、それぞれOHラジカルによる側鎖の水素引き抜き、及び環への付加反応によって開始され、それぞれの生成物を与える反応機構が提案されている。

本研究ではこれらの研究をふまえて、実験装置として従来のGC, GC-MSに変え、長光路フーリエ変換赤外分光光度計(FITR)を組み込んだ光化学反応装置を製作し、生成物の分析実験を行なった。研究としては、上記の三つの型の反応生成物の中で、従来研究の最も遅れていたベンゼン環開裂による酸化反応生成物に着目し、FITRによるそれらの同定、定量を行うとともに、その生成機構について考察した。本研究により得られた成果は次のとおりである。

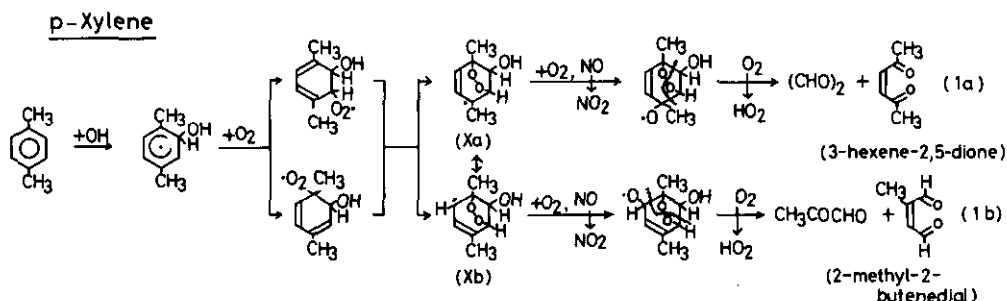
(1) ベンゼン環開裂反応は、本研究で研究された芳香族炭化水素、ベンゼン、トルエン、*o*、*m*、*p*-キシレン、1,2,3-, 1,2,4-, 1,3,5-トリメチルベンゼンのすべてについて見られ、 $\alpha$ -ジカルボニル化合物(ベンゼンではグリオキザール、トルエン、*m*-, *p*-キシレンではグリオキザールと



メチルグリオキザール；*o*-キシレン，1,2,3-, 1,2,4-トリメチルベンゼンではグリオキザール，メチルグリオキザール，バイアセチル；1,3,5-トリメチルベンゼンではメチルグリオキザール）が共通に見出された。個々の化合物についての生成物の収率を表3に示した。

(2)  $\alpha$ -ジカルボニル化合物以外の環開裂反応生成物としては，ベンゼン，トルエン，*o*-キシレンの場合に無水マレイン酸が，また*p*-キシレン，1,2,4-トリメチルベンゼンの場合3-ヘキセン-2,5-ジオンが見出された。これら不飽和の $\gamma$ -ジカルボニル化合物の収率は上の $\alpha$ -ジカルボニル化合物に比べてずっと少ないが，ベンゼン環が開裂したときに $\alpha$ -ジカルボニル化合物と同時に生成するものと思われる。

(3) これらベンゼン環開裂反応のメカニズムとしては，OHラジカル付加ペルオキシラジカルの環化開裂が示唆された。例えば*p*-キシレンの場合のスキームとしては



が考えられる。また無水マレイン酸は，ベンゼン，トルエン，*o*-キシレンの場合に上のスキームに従って生成すると思われる $\gamma$ -ジカルボニル化合物，*cis*-2-ブテン-1,4-ジアル（OHC-CH=CH-CHO）が更に酸化されて生成したものと思われる。

(4) トルエン，キシレン，トリメチルベンゼンの各々の場合についてのグリオキザール，メチルグリオキザール，バイアセチルの生成比は，上の反応スキームにおけるOHラジカルの付加位置，O<sub>2</sub>の付加位置，環化付加体の開裂位置によって決まるものと考えられる。本研究では，それぞれの異性体について，これら $\alpha$ -ジカルボニル化合物の生成比を合理的に説明するための一般則が提案された。

(5) これらベンゼン環開裂反応経路が反応全体に占める比率は，ベンゼン，トルエンではそれぞれ15-20，29%，*o*-,*m*-,*p*-キシレンではそれぞれ，41，55，36%，1,2,3-, 1,2,4-, 1,3,5-トリメチルベンゼンではそれぞれ70，56，64%と決定され，一般にメチル置換基数の多い方が環開裂反応の比率が大きかった(表3参照)。

## 2 各種炭化水素類から生成される光化学二次汚染物質

本研究を含めこれまでの研究により文献的に明らかにされてきた光化学二次汚染物質を，各種の典型的炭化水素について表4に掲げた。光化学二次汚染物質の内，オゾン，過酸化水素，二酸化窒

表 3 芳香族炭化水素-NO<sub>x</sub>-空気系光酸化反応における開環生成物の収率<sup>a)</sup>

	メチル			無水 マレイン酸	3-ヘキセン 2,5ジオン	開環反応 合計 <sup>b)</sup>
	グリオキザール	グリオキザール	バイアセチル			
ベンゼン	0.15~0.20	—	—	0.03~0.04	—	0.15~0.20
トルエン	0.15	0.14	—	0.04	—	0.29
( <sup>o</sup> )-キシレン	0.08	0.23	0.10	0.04	—	0.41
( <sup>m</sup> )-キシレン	0.13	0.42	—	—	—	0.55
( <sup>p</sup> )-キシレン	0.24	0.12	—	—	0.24	0.36
1,2,3-トリメチル ベンゼン	0.07	0.18	0.45	—	—	0.70
1,2,4-トリメチル ベンゼン	0.08	0.37	0.11	—	0.18	0.56
1,3,5-トリメチル ベンゼン	—	0.64	—	—	—	0.64

a) 炭化水素減少モル数当たりの生成モル数

b) グリオキザール, メチルグリオキザール, バイアセチル収率の合計

素, 硝酸, 亜硝酸, 一酸化炭素, 硫酸ミスト等の無機化合物は, いずれの炭素水素からも共通に生成されるもので, これらは表4から省かれている。表にみられるように光化学的に生成する有機化合物のうちホルムアルデヒド等はほとんどの炭素水素から共通に生成されるが, その他についてはパラフィン系炭素水素, オレフィン系炭素水素, 芳香族炭化水素など炭素水素の種類によって特徴的な化合物が生成していることがわかる。すなわち *n*-ブタン, エチレン, プロピレン等の鎖状飽和・不飽和炭化水素では鎖状カルボニル化合物, 硝酸エステル類が主生成物であるが, シクロヘキサン, シクロヘキセン等の環状パラフィン, 環状オレフィン類では, 環が開裂し炭素水素鎖の両末端に-CHO, -COOH, -ONO<sub>2</sub>などの置換基をもった化合物が生成するのが大きな特徴である。また本研究で重点的に研究された芳香族炭化合物では, 上にみたように, グリオキザール類, 及びベンゼン環に-CHO, -OH, -NO<sub>2</sub>等の置換基をもった芳香族アルデヒド, クレゾール類, ニトロベンゼン類, ニトロクレゾール類などが特徴的に生成する。

実際の光化学スモッグでは, 表1にみられるような各種炭素水素から表4にみられるような化合物及びその同族体が同時に生成し, 非常に多くの化合物がガス状及びエアロゾル成分として含まれていることが予想され, その生体影響の研究も, 従来の単一汚染物質の場合に比べて多くの困難がある。しかし本プロジェクトで明らかにされたように, 例えばプロピレンから生成された光化学二次汚染物質の総体としての細胞毒性は同程度の濃度のオゾン, NO<sub>2</sub>, アルデヒド等単一の場合に比べてはるかに強いことや, 特にトルエンから生成された光化学二次オゾン物質総体の変異原性はプロピレンから生成されたものに比べてはるかに強いこと等の事実は, 光化学スモッグ中の物質組成と生体毒性との関連を明らかにする上で大きな手がかりとなるものと思われる。一方光化学二次汚染物質の分析と同定に関しても, 表4には掲げられていない未同定物質もまだ数多くあるものと思われる, この方面の研究も生体毒性の研究と関連しつつ, なお続けることが重要であろう。

表 4 各種典型炭化水素から生成される光化学二次汚染物質<sup>a)</sup>

	主生成物	少量生成物
n-ブタン <sup>6)</sup>	ホルムアルデヒド アセトアルデヒド メチルエチルケトン 硝酸-2-ブチル PAN <sup>b)</sup>	プロピオンアルデヒド ブチルアルデヒド 硝酸メチル 硝酸エチル 硝酸1-ブチル
シクロヘキサ <sup>7)</sup>	ホルムアルデヒド シクロヘキサノン 硝酸シクロヘキシル グルタルアルデヒド <sup>c)</sup> アジピンアルデヒド <sup>c)</sup> 硝酸-6-オキソベンチル <sup>c)</sup> 硝酸-6-オキソヘキシル <sup>c)</sup>	ギ酸 アセチレン
エチレン <sup>8)</sup>	ホルムアルデヒド グリコールアルデヒド	ギ酸 無水ギ酸 ギ酸ヒドロキシメチル
プロピレン <sup>9)</sup>	ホルムアルデヒド アセトアルデヒド PAN	1,2-プロパンジオール ジナイトレート (PGDN) 硝酸ヒドロキシプロピル ギ酸 プロピレンオゾンド
シクロヘキセン <sup>10)</sup>	ペンタナール グルタルアルデヒド アジピンアルデヒド 6-オキソペンタン酸 6-オキソヘキサン酸 グルタル酸 アジピン酸 ギ酸	エチレン
トルエン <sup>3,4,11)</sup>	ホルムアルデヒド グリオキザール メチルグリオキザール ベンズアルデヒド クレゾール m-ニトロトルエン PAN	無水マレイン酸 ギ酸 硝酸ベンジル 6-ニトロ-o-クレゾール 2-ニトロ-p-クレゾール PB <sub>2</sub> N <sup>d)</sup>
α-キシレン <sup>4,11)</sup>	ホルムアルデヒド グリオキザール メチルグリオキザール バイアセチル トルアルデヒド キシレノール 3,4-, 2,3-ニトロキシレン ギ酸 PAN	ジメチルベンゾキノン 硝酸-o-メチルベンジル ニトロキシレノール

a) これら以外に共通にみられる無機二次生成物として O<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HONO, HNO<sub>3</sub>, CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (SO<sub>2</sub>のあるとき) など。

b) パーオキシアセチルナイトレート。

c) それぞれ OHC-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CHO, OHC-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-ONO<sub>2</sub>, n=5及び6。

d) パーオキシベンゾイルナイトレート。

## 引用文献

- 1) 酒巻史郎・高木博夫・秋元 肇 (1984): 真空排気型スモッグチャンバーによる環境大気光照射実験におけるオゾン生成の研究. 国立公害研究所研究報告, 第59号, 31-61.
- 2) (a) 秋元 肇・星野幹雄・井上 元・奥田典夫・鷺田伸明 (1978): 気相におけるトルエン- $\text{NO}_2$ - $\text{O}_2$ - $\text{N}_2$ 系の光酸化反応機構の研究. 国立公害研究所研究報告, 第5号, 23-42.  
 (b) Akimoto, H., M. Hoshino, G. Inoue, M. Okuda and N. Washida (1978): Reaction mechanism of the photooxidation of the toluene- $\text{NO}_2$ - $\text{O}_2$ - $\text{N}_2$  system in the gas phase. Bull. Chem. Soc. Jpn., **51**, 2496-2502.
- 3) (a) 星野幹雄・秋元 肇・奥田典夫 (1978): OH ラジカルによるベンゼン, トルエンおよびエチルベンゼンの気相酸化反応. 国立公害研究所研究報告, 第5号, 43-59.  
 (b) Hoshino, M., H. Akimoto and M. Okuda (1978): Photochemical oxidation of benzene, toluene, and ethylbenzene initiated by OH radicals in the gas phase. Bull. Chem. Soc. Jpn., **51**, 718-724.
- 4) (a) 高木博夫・鷺田伸明・秋元 肇・奥田典夫 (1978): 光イオン化ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた *o*-, *m*-, *p*-キシレンの光酸化反応二次生成物の分析. 国立公害研究所研究報告, 第5号, 61-76.  
 (b) Takagi, H., N. Washida, H. Akimoto, K. Nagasawa, Y. Usui and M. Okuda (1980): Photo oxidation of *o*-xylene in the  $\text{NO}$ - $\text{H}_2\text{O}$ -air system. J. Phys. Chem., **84**, 478-483.
- 5) その他本報告書, 報文Ⅲ-2中の引用文献参照.
- 6) Carter, W. P. L., A. C. Lloyd, J. L. Sprung and J. N. Pitts, Jr. (1979): Computer modeling of smog chamber data: Progress in validation of a detailed mechanism for the photooxidation of propane and *n*-butane in photochemical smog. Int. J. Chem. Kinet., **11**, 45-101.
- 7) Takagi, H., N. Washida, H. Bandow, H. Akimoto and M. Okuda (1981): Photooxidation of  $\text{C}_5$ - $\text{C}_7$  cycloalkanes in the  $\text{NO}$ - $\text{H}_2\text{O}$ -air system. J. Phys. Chem., **85**, 2701-2705.
- 8) Niki, H., P. D. Maker, C. M. Savage and L. P. Breitenbach (1981): An FTIR study of mechanisms for the OH radical initiated oxidation of  $\text{C}_2\text{H}_4$  in the presence of  $\text{NO}$ ; Detection of glycolaldehyde. Chem. Phys. Lett., **80**, 499-503.
- 9) (a) 秋元 肇・坂東 博・酒巻史郎・井上 元・星野幹雄・奥田典夫 (1979): 長光路フーリエ変換赤外分光器によるプロピレン-窒素酸化物-空気系光酸化反応生成物に関する研究. 国立公害研究所研究報告, 第9号, 9-27.  
 (b) Akimoto, H., H. Bandow, F. Sakamaki, G. Inoue, M. Hoshino and M. Okuda (1980): Photo oxidation of the propylene- $\text{NO}_x$ -Air system studied by long-path Fourier transform infrared spectroscopy. Environ. Sci. Technol., **14**, 172-179.  
 (c) 秋元 肇 (1984): プロピレン- $\text{NO}_x$ -空気系光酸化反応の計算機シミュレーション. 国立公害研究所研究報告, 第59号, 111-136.
- 10) Hatakeyama, S., T. Tanonaka, J-H. Weng, H. Bandow, H. Takagi and H. Akimoto (1985): Ozone-cyclohexene reaction in air - quantitative analysis of particulate products and the reaction mechanism. Environ. Sci. Technol., **19**, 935-942.
- 11) 坂東 博・鷺田伸明・秋元 肇 (1986): 芳香族炭化水素の光酸化反応機構. 国立公害研究所研究報告, 第87号, 39-83.

## II-2 光化学二次汚染物質の培養細胞に及ぼす生物学的影響 Biological Effects of Photochemical Secondary Pollutants on Cultured Cells

白石不二雄<sup>1</sup>  
Fujio SHIRAISHI<sup>1</sup>

光化学二次汚染物質の培養細胞に及ぼす生物学的影響を検索するに当たって、光化学二次汚染物質は環境中でどのような状態で存在しているかを考慮しておくことは極めて重要である。

O<sub>3</sub> 及び PAN をはじめとする光化学オキシダントやガス状で存在する光化学二次汚染物質は、一般に反応性に富み、不安定であると考えられるが、これらを溶液に溶かした状態で培養細胞に暴露する場合、ガス状物質として有している特異な毒性が消失してしまうことがあり、光化学二次汚染物質の影響評価を誤らせる場合がある。

本研究では、培養細胞に及ぼす光化学二次汚染物質特有の生物学的影響を鋭敏に検索するために、ガス状物質についてはガス状のまま培養細胞に暴露する方法の検討を試みた。光化学スモッグとしては、炭化水素と NO<sub>2</sub> の光化学反応で生ずる光化学反応生成混合物（光化学スモッグ・シミュレートガス）を光化学二次汚染物質として培養細胞に暴露し、増殖抑制を指標とする細胞毒性と姉妹染色分体交換頻度を指標とする細胞遺伝毒性について影響を調べた。

### 1 光化学二次汚染物質の培養細胞への暴露方法

ガス状大気汚染物質の培養細胞への暴露実験は主に NO<sub>2</sub> あるいは O<sub>3</sub> について試みられた報告が多いが、いずれも暴露方式がまちまちであり、これまでのところ、確立された方法はない。

これまで報告されているガス状物質の培養細胞への暴露方式を分類すると、

- (1) リンパ球などの浮遊細胞に暴露するために細胞浮遊液に試料ガスをバブリングする方式<sup>1)</sup>,
- (2) 培養ビン、シャーレなど単層培養した細胞を溶液から露出させて細胞表面に試料ガスを接触させる方式<sup>2-5)</sup>,
- (3) 基本的には (2) の方式を応用したものであるが、比較的長時間(数時間)ガス暴露ができるように開発された方式として、細胞を溶液から露出した状態と溶液に浸した状態とを繰り返し、細

---

1. 国立公害研究所 環境生理部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2  
Basic Medical Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

胞が溶液から露出した状態のときに試料ガスが細胞表面に接触するようにした方式<sup>6-10)</sup>,

(4) メンブランフィルターの表面に細胞を単層培養してその裏面から試料ガスを接触させる方式<sup>11)</sup>,

などがある。本研究で採用した暴露方式は (3) にあげた分類に属するが、培養角ピンの一面に単層培養された Chinese hamster 由来の V79 細胞がガス暴露期間中、培養ビン回転装置上の培養角ピンを回転させることにより、溶液から露出し、このときに細胞がガスと直接接触する方法である。すなわち、細胞は培養角ピンの 0.25rpm の回転により、4 分間のうち 3 分間は溶液から露出し試料ガスに接触する。そして、4 分間に 1 分間は溶液に浸され、乾燥による傷害から守られる。

暴露条件として、毎分 200ml のガス流量と 2 時間の暴露条件を設定し、清浄空気暴露の影響を調べたところ、暴露後 24 時間目の細胞増殖は、清浄空気を暴露された細胞と暴露方式をとらなかった対照群の細胞との間に差は認められなかった。このことから、この暴露方法はガス状物質の生物学的影響を検索するのに適していると判断され、本研究での光化学二次汚染物質の毒性試験法に採用された。

## 2 光化学スモッグ・シミュレートガスの生物学的影響

光化学スモッグチャンバーを用いて、プロピレン-NO<sub>2</sub>/乾燥空気系反応により生成された光化学スモッグ・シミュレートガス (プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物) とトルエン-NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応により作成された光化学スモッグ・シミュレートガス (トルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物) の細胞レベルでの生物学的影響が調べられた。これまで光化学二次汚染物質の生体影響は、いわゆる光化学スモッグによる人体への急性影響に関する研究が主体をなし、がん原性などの遅発的影響に関する研究はほとんど試みられていない。本研究は、光化学二次汚染物質の培養細胞に対する細胞遺伝毒性を検討することにより、大気汚染と変異原性あるいはがん原性との関連を明らかにする一環として試みられたものである。

ここでは、2 種類の光化学スモッグ・シミュレートガスを V79 細胞に 2 時間暴露し、増殖抑制を指標とする細胞毒性と姉妹染色分体交換 (Sister chromatid exchange: SCE) の誘発を指標とする細胞遺伝毒性を調べた。プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物については 4 段階の濃度について検索し、いずれの濃度でも顕著な SCE 誘発が認められ、光化学オキシダント濃度が 0.79ppm という最高濃度のときで、SCE 頻度は対照の 3.9 倍を示した。またトルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物については 5 段階の濃度について検索し、いずれの濃度の場合にも顕著な SCE 頻度の誘発が認められ、光化学オキシダント濃度 0.29ppm の最高濃度のとき、SCE 頻度は対照の 3.6 倍を示した。一方、代表的なガス状大気汚染物質である NO<sub>2</sub> 及び O<sub>3</sub> の単独暴露によっても SCE の誘発が認められたが、両ガスとも最高濃度のときで、SCE 頻度は対照の 1.5 倍から 1.7 倍程度にすぎず、細胞遺伝毒性は弱いことが示された。結果として、2 種類の光化学スモッグ・シミュレートガスは NO<sub>2</sub> 及び O<sub>3</sub> の単独ガスと比較してかなり強い細胞遺伝毒性を持つことが示された。

光化学二次汚染物質として同定されているものの中でその変異原性あるいは細胞遺伝毒性が注目されているものにホルムアルデヒドがあげられる。本研究で用いられた2種類の光化学スモッグ・シミュレートガス中にはホルムアルデヒドが比較的高濃度に存在しており、さらにアルデヒド基を持つその他の化合物も共存していることが知られている。光化学スモッグ・シミュレートガスの比較的強い細胞遺伝毒性にホルムアルデヒドあるいはその他のアルデヒド化合物が関与していることが容易に推測される。また、トルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物には、本研究では分析されなかったニトロトルエン、クレゾール、その他未知の生成物も含まれていることも推測され、それらの細胞遺伝毒性の関与も否定できない。一方では、光化学スモッグ・シミュレートガスに含まれる化合物の相互作用により細胞遺伝毒性が強められていることも予想される。いずれにしても、環境中に存在するが、細胞遺伝毒性は弱い、あるいは細胞遺伝毒性を示さないような汚染物質から光化学反応により、はるかに強い細胞遺伝毒性を示す光化学二次汚染物質が生成されるということは本研究において得られた最も興味ある事実である。今後、光化学二次汚染物質として分析同定された個々の化合物の細胞遺伝毒性を同一の実験系で検索し、相対評価を試みるとともに、光化学二次汚染物質間の複合作用を検討することが重要と思われる。

#### 引用文献

- 1) Gooch, P. C., D. A. Creasia and J. G. Brewen (1976): The cytogenetic effects of ozone: inhalation and *in vitro* exposures. *Environ. Res.*, **12**, 188-195.
- 2) Tsuda, H., A. Kushi, D. Yoshida and F. Goto (1981): Chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges induced by gaseous nitrogen dioxide in cultured Chinese hamster cells. *Mutat. Res.*, **89**, 303-309.
- 3) Fetner, R. H. (1962): Ozone-induced chromosome breakage in human cell cultures. *Nature (London)*, **194**, 793-794.
- 4) 磯村公郎・深瀬 治・渡辺 弘 (1976): ガス状大気汚染物の細胞毒性と突然変異能. *大気汚染研究*, **11**, 1-6.
- 5) Pace, D. M., J. R. Thompson, B. T. Aftonomos and H. G. O. Holck (1961): The effects of NO<sub>2</sub> and salts of NO<sub>2</sub> upon established cell line. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **39**, 1247-1255.
- 6) Pace, D. M., P. A. Landolt and B. T. Aftonomos (1969): Effects of ozone on cells *in vitro*. *Arch. Environ. Health*, **18**, 165-170.
- 7) Guerrero, R. R., D. E. Rounds, R. S. Olson and J. D. Hackney (1979): Mutagenic effects of ozone on human cells exposed *in vivo* and *in vitro* based on sister chromatid exchange analysis. *Environ. Res.*, **18**, 336-346.
- 8) Guerrero, R. R., D. E. Rounds, J. Booher, R. S. Olson and J. D. Hackney (1979): Ozone sensitivity in aging WI-38 cells based on acid phosphatase content. *Arch. Environ. Health*, **34**, 406-412.
- 9) Wenzel, D. G., J. J. Kotek, D. L. Morgan and E. J. Wrobel (1979): An ozone-generating system and chamber for testing injury to cultured cells. *Arch. Environ. Health*, **34**, 454-460.

- 10) Bolton, D. C., B. D. Tarkington, Y. C. Zee and J. W. Osebold (1982): An *in vitro* system for studying the effects of ozone on mammalian cell cultures and viruses. *Environ. Res.*, **27**, 466-475.
- 11) Samuelsen, G. S., R. E. Rasmussen, B. K. Nair and T. T. Crocker (1978): Novel culture and exposure system for measurement of effects of air borne pollutants on mammalian cells. *Environ. Sci. Technol.*, **12**, 426-430.



## II-3 光化学二次生成物質の動物暴露実験用 チャンバーの作製について

### Constructions of Chamber System for Photochemical Secondary Pollutants-Exposure to Experimental Animals

嵯峨井 勝<sup>1</sup>  
Masaru SAGAI<sup>1</sup>

昭和40年代から50年代にかけて、東京や大阪で頻発した「光化学スモッグ」と呼ばれるものの中には、NO<sub>2</sub>やオゾン、パーオキシアセチルナイトレート(PAN)をはじめとするオキシダント類の他にも多くの光化学二次生成物質が含まれていることが知られている。しかしながら、実際に発生した光化学スモッグの中の詳しい組成成分については現在もまだ、十分に解析されていない。

このようなことから、前項(II-1)に述べられたような、実験的に発生させた光化学二次汚染物質の組成成分の解析は、ヒトの健康に及ぼす影響を解析するための研究にとって極めて重要なデータとなる。

光化学スモッグにより発生した健康被害のうち、被害者の臨床的所見からみて、その因果関係が明らかになっているのは、先に述べられているように眼と気道粘膜系の刺激症状のみであり、その他の全身症状や神経症状を呈する原因物質については現在に至るも全く不明のままに残されている。

このようなことから、光化学スモッグによる被害症状と原因物質との因果関係を解明するには実験動物を用いた毒性学的研究が必要となっている。前項の光化学二次生成物質の化学組成解析と細胞毒性検索用の光化学スモッグチャンバーシステムについては従来の研究の経験に基づいた検討の結果、長光路赤外分光型チャンバーを含む暴露システムが開発された(III-1参照)。しかし、このチャンバーは、いわゆる密閉型であるため大きな流量を取り出すことができず、細胞毒性検索用には充分であるが、動物実験の場合に必要な流量をとり出すことはできない。動物実験の場合には少なくとも毎分5 l以上の空気流量が必要である。

このようなことから、実験動物を用いて、健康影響に関する毒性学的研究を行うためには、どうしても常に新しい空気を供給しうるフロータイプの光化学スモッグチャンバーを開発しなければなら

---

1. 国立公害研究所 環境生理部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町16番2  
Basic Medical Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba,  
Ibaraki 305, Japan.

らない。このようなチャンバーは国内はもとより、国外からもほとんど報告されていない。このため、特別経常研究として発足した、この「光化学二次生成物質の分析とその細胞毒性に関する基礎的研究」の研究課題の中に動物実験用フロータイプの光化学スモッグ発生チャンバーの開発も加えられた。

このような背景によって加えられた動物実験用光化学スモッグ発生チャンバーはフロータイプであることに加えて、光化学二次生成物質の組成と濃度が安定した状態で再現性に優れ、かつ連続的に生成しうるものであることが要求される。このような条件を満たす装置の作製を行った結果、現時点ではNO<sub>2</sub>とプロピレンの混合ガスにブラックライトを用いて光を照射し、パイレックス製の反応槽部分を一定の長さ以上にすることにより、光反応によって生じたオゾンを一一定濃度に安定にかつ長時間生成しうるチャンバーを作製することができた。この部分の詳細についてはⅢ-4に述べられているが、このチャンバーは大別して i) ガス希釈部、ii) 光化学反応槽部、iii) 動物暴露部及び iv) NO<sub>x</sub>、オゾン等の測定機器部より構成されている。

今後は更に、プロピレン以外の、特に環境大気中に比較的多量に存在することが知られている、トルエン、キシレンその他の芳香族炭化水素とNO<sub>2</sub>との、あるいはこれにSO<sub>2</sub>も加わった、光化学反応を効果的に起こし得る光化学反応槽部分の改良がはかられる必要がある。また、測定機器部についても、生じた炭素水素由来の二次生成物の同定のためにフーリエ変換型赤外分光光度計やガスクロマトグラフィー等を組み込んだシステムを作製してゆくことも必要である。更に、動物暴露部分についても、現在のラット専用のものだけでなく、各種の動物を同時に多数暴露しうるような装置に改良してゆくことも必要である。

一方、前述のプロピレンとNO<sub>2</sub>の混合ガスに光照射した光化学スモッグをラットに短時間暴露した場合の呼吸数(RR)と心拍数(HR)の変化の予備的実験も行われた。ここで得られた予備実験の結果と、NO<sub>2</sub>あるいはオゾンの同等濃度の単独ガス暴露で得られた結果との間にはいくつかの相違が認められていることから、光化学二次生成物の中にはNO<sub>2</sub>やオゾンとは作用の異なる物質が含まれている可能性が考えられる。このようなことから、今後はさらに、プロピレン-NO<sub>2</sub>系だけでなく、芳香族炭化水素-NO<sub>2</sub>系あるいは芳香族炭化水素-NO<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>系などについて、NO<sub>2</sub>やオゾン以外の二次生成物質の詳細な同定と、同定された物質の単独暴露時の生体影響との比較などを行ってゆく必要がある。

このような検討により、光化学スモッグによると思われる重症被害者にみられた臨床症状を表わす原因物質の探究に努めると同時に、同じ光化学スモッグを吸入したと思われるのに、ある人は重症症状を呈するのに、別の人にほとんど自覚症状が無いという事実をふまえて個人差の原因についても検討するべきと考えられる。幸いにして、このような生体影響に焦点を当てた研究は次の特別経常研究「光化学二次汚染物質の生体影響に関する実験的研究」に引き継がれることになっている。

## Ⅲ 報 文

### Ⅲ-1 長光路赤外分光型光化学チャンバーの製作 と光化学スモッグ・シミュレートガス の培養細胞暴露システムの開発

Photochemical Reaction Chamber with a Long-path Infrared Spectrometer and  
an Exposing System for Cultured Cells to Photochemical Smog-Simulated Gases

白石不二雄<sup>1</sup>・坂東 博<sup>2</sup>・秋元 肇<sup>2</sup>

Fujio SHIRAISHI<sup>1</sup>, Hiroshi BANDOW<sup>2</sup> and Hajime AKIMOTO<sup>2</sup>

#### 要 旨

炭化水素-窒素酸化物系の光化学反応で生成する光化学スモッグ・シミュレートガスの生体影響を検索するために、光化学反応チャンバーと細胞暴露装置とからなる実験システムを完成した。光化学反応チャンバーとしては、長光路フーリエ変換赤外分光器を組み込んだ内容積790 lのものを作製し、その性能試験を行った。

一方生体影響検索用の培養細胞としては Chinese hamster 肺由来の V79 細胞株が選ばれ、その培養条件、ガス暴露条件について検討した。これらの結果をもとに、インキュベーター内の回転ビン培養装置に上記の光化学反応チャンバーで生成した光化学スモッグ・シミュレートガスを流量を調節しながら導入できる細胞暴露システムを完成した。

本システムにより光化学オゾン0.1~0.5ppmを含む光化学反応生成物を再現性よく、安定的に生成し、これを約2時間培養細胞に暴露することにより、光化学スモッグ・シミュレートガスの生体毒性を検索することが可能となった。

#### Abstract

An experimental system was designed and built for investigating biological effects of simulated photochemical smog gases produced by atmospheric photooxidation of the hydrocarbons-nitrogen oxides system. The system consists of a photochemical reaction chamber and an apparatus for exposing cultured cells to the simulated smog gas. The photochemical

1. 国立公害研究所 環境生理部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2  
Basic Medical Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 大気環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2  
Atmospheric Environmental Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

reaction chamber was made of stainless-steel cylinder having a capacity of 790 l with which a long-path Fourier transform infrared spectrometer was combined, and its performance test was carried out. The Chinese hamster V79 cell line was selected as an experimental cultured cell for testing of biological effects, and conditions of cell culture and gas exposure were investigated. On the basis of these data, the experimental system was established in order that it could expose to the photochemical smog-simulated gas produced in the photochemical reaction chamber cultured cells in bottles set up in the exposure apparatus. It has been found that this system could make us feasible to examine biotoxicities of photochemical smog-simulated gases by producing reliably and stably the photochemical reaction products including 0.1-0.5ppm levels of photochemical ozone, and supplying these gases to the exposure apparatus for about 2 hours.

## 1 はじめに

光化学スモッグの生体影響については、これまでに数多くの臨床報告<sup>1)</sup>が発表されているが、培養細胞、実験動物等を用いた実験室的研究の多くは、オゾン、NO<sub>2</sub>等の単一成分気体に対するものが多く、光化学二次生成物一般及びその混合物を対象とした研究<sup>2,3)</sup>は数少ない。

そのような光化学二次生成物一般を対象とした生体影響実験の困難さの第一は、試料中に含まれる反応生成物組成を完全に把握することの困難さにある。光化学汚染大気中の物質組成については従来の研究によりかなりその全容が明らかになりつつあるが<sup>4,5)</sup>、個々の有機化合物に着目して、その光化学反応生成物の生体影響実験を行う場合には、その混合物の物質組成に対するより精度の高い知見が要求されよう。

本研究ではまず最初に、光化学二次汚染物質を生成すると同時に、生成物を容器から取り出すことなく組成分析が行なえるような長光路赤外分光型光化学チャンバー<sup>6-8)</sup>を製作した。このチャンバーは単独で各種有機化合物の光酸化反応機構の研究に利用されると同時に、次に述べる細胞暴露システムの一部として、光化学反応生成物(光化学スモッグ・シミュレートガス)を培養細胞へ供給することができるものである。次節では本研究で製作された長光路赤外分光型光化学チャンバーについて、その仕様、性能、特性などを詳しく記述する。

一方、光化学二次汚染物質の生体毒性の検索法としては、いくつかの方法が試みられている<sup>9-15)</sup>が、本研究では特に培養細胞を用いた検索法の開発を試みた。ガス状の大気汚染物質の生体影響を培養細胞を用いて検索する方法としては、ガス状物質をそのまま細胞暴露する方法と、溶液に溶かし込んだ状態で暴露する方法の二つが考えられる。しかし例えばTsudaら<sup>9)</sup>の実験によればガス状NO<sub>2</sub>による細胞遺伝毒性は、これを水溶液に溶かした場合のNO<sub>2</sub>イオンの作用とは著しく異なることが知られている。したがって光化学二次生成物の場合にもガス状のまま細胞暴露する方法の方が望ましいと考えられ、本研究ではこの方法による暴露システムの開発を試みた。特に本研究では光化学チャンバーからの光化学反応生成物を培養細胞に暴露するに当たり、できるだけ環境濃度レベルに近づけた条件下で、比較的長時間暴露できるような実験装置の開発及び実験条件の検討を行った。本論文ではこれらの詳細について述べる。

## 2 長光路赤外分光型光化学チャンバー

本光化学チャンバーは細胞暴露実験のための模擬光化学汚染混合気体の調製・供給行うと同時に、その各成分を非破壊同時分析することを第一の目的とする光化学反応装置である。一方、模擬汚染大気の供給システムという役割だけでなく、反応生成物の分析を通して気相光化学反応の研究に十分応用できる光化学反応装置となるよう設計・製造された。いわゆる光化学スモッグチャンバーとして、当時既に当研究所大気環境部において真空排気型大型スモッグチャンバーが実績を挙げており<sup>6)</sup>、本光化学チャンバーの設計において大型チャンバー建造で蓄積された知識・技術が参考にされた。しかし、本装置は、例えばチャンバー内清浄度：真空排気+加熱焼き出し温度の制限及び光源のチャンバー内設置、大きな表面積/体積比などの、スモッグチャンバーとしての基本性能に関しては大型チャンバーに及ばないものの、環境濃度に十分近い条件（例えば炭化水素、窒素酸化物濃度が1~0.1ppm程度）の実験が行えるものとなるよう設計された。特に低濃度であっても生体影響に大きく寄与する化合物の存在が考えられることから、分析手段として採用した長光路フーリエ変換型赤外分光システム(LP-FTIR)は、多くの気体成分に対してその測定濃度限界がppbレベルのものとなるよう設計された。

### 2.1 チャンバーの構成

**チャンバー本体：**反応容器は円筒型ステンレスチール(SUS-304L)製で、内径0.5m、長さ3.55m、内容積0.79m<sup>3</sup>である。反応容器の内壁は反応物、生成物の壁面への吸着及び壁面での不均一系反応を少なくする目的で、FEP(4フッ化エチレン-6フッ化プロピレン共重合体)-テフロン、厚さ約15ミクロン、で被覆された。図1、2に本装置の外観図及び外観写真を示す。本体は三つの部分より構成され、中央部には真空排気ポート、試料気体の導入・取り出し用サービスポート、及びチャンバー内気体混合用のファン一对が取り付けられている。左右の円筒には長光路光学系支持台用のポート(真空ベローズに連結)、上部及び側面からののぞき窓があり、一方の端面フランジには赤外光用入・出射窓(KBr板)が、他方には光源用電源のための電流導入端子が設置されている。この三つの部分は外側をジャケットで覆われ、その中を循環する水で光化学反応中のチャンバー温度を調節(通常25±2°C)するとともに、真空排気の際には内壁に付着した化合物の除去を容易にするために80°Cまでの加熱焼き出しが行えるようになっている。また、左右円筒部分内部には内壁面に沿って各7本ずつ計14本のブラックライトランプ(東芝FL-40S-BLB)が配置され光照射用光源として用いられる。

真空排気系は、油回転ポンプ(950 l/min)と油拡散ポンプ(1500l/s)からなり、 $1 \times 10^{-6}$ Torr以下の最高到達真空度が得られる。

**空気清浄装置：**実験に用いられる清浄空気は、室内空気を空気清浄装置(スタンダードテクノロジ社製、モデルSGPU-21)に通して得たものを用いた。この空気清浄装置は原料空気中の炭化水素、CO、NO等を450°Cに加熱した白金/アルミナ触媒で酸化し、生成するCO<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>Oをモ

レキュラーシーブ吸着剤によって除去するものである。この装置から得られる清浄空気中の不純物濃度としては、窒素酸化物 $\approx 2$  ppb, 炭化水素 $< 100$ ppbC,  $\text{CO}_2 < 1$  ppm,  $\text{CO} < 10$ ppb,  $\text{H}_2\text{O} < 10$ ppm が保証されている。チャンバーへの空気供給は最大流量 $= 70$  l/min であるが、通常は $60 \sim 50$  l/min の流量で行った。この空気は、細胞暴露実験の際に対照用清浄空気として、また FTIR 分光器の中のバージ用のガスとしても使用された。

**長光路赤外分光分析システム：**光化学スモッグチャンバー内の反応物及び生成物はチャンバー内に組み込まれた長光路光学系を持つフーリエ変換型赤外分光器(LP-FTIR)によって定量分析された。FTIR 分光器は Nicolet 社製モデル7199型分光器で、最高分解能 $0.06\text{cm}^{-1}$ を持つ。分光器から平

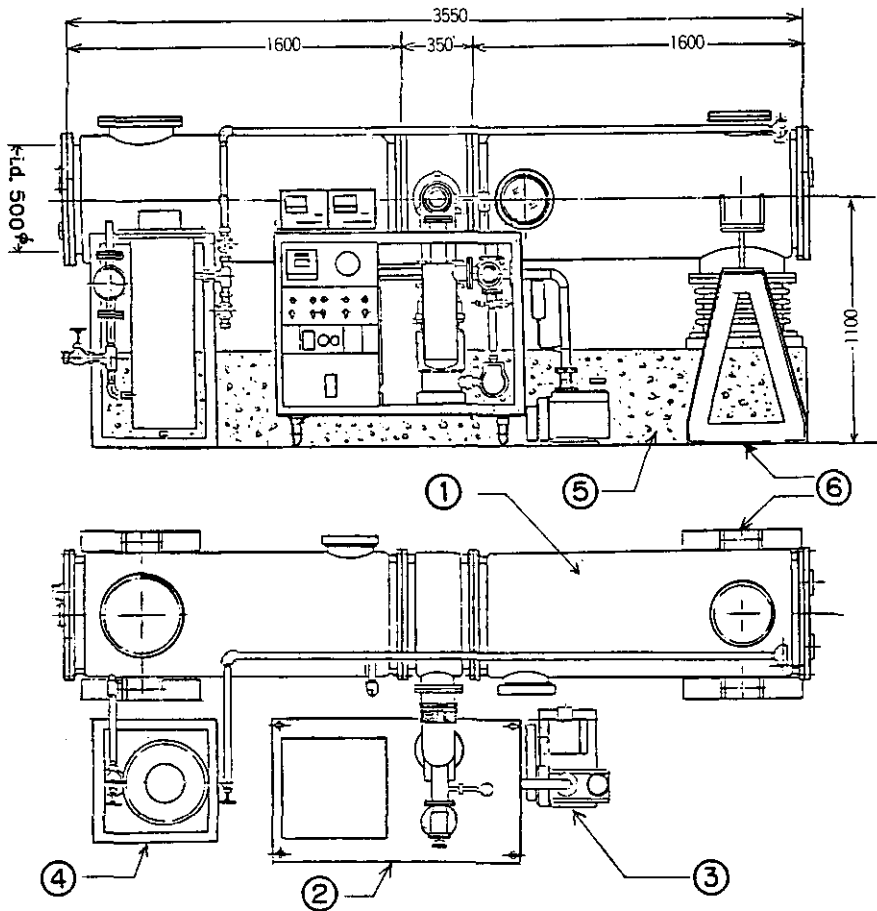


図 1 長光路赤外分光型光化学チャンバー外観図  
 ①：チャンバー本体，②：真空排気系ユニット  
 ③：油回転ポンプ，④：温度調節用水循環ユニット  
 ⑤：光学系支持架台 ⑥：チャンバー支持脚

Fig. 1 Schematic view of the photochemical chamber for long-path IR spectrometry

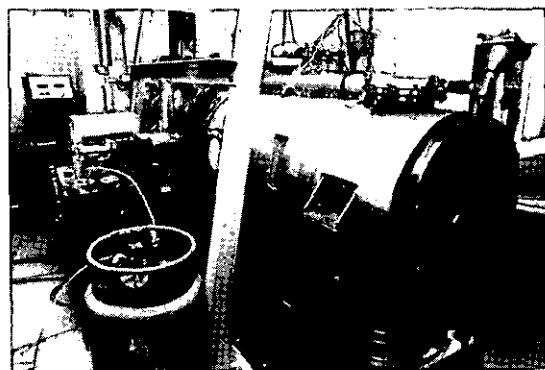


図 2 長光路赤外分光型光化学チャンバー

Fig. 2 Photochemical chamber for long-path infrared spectrometry

行光として取り出された赤外光は補助光学系によりチャンバー内の長光路光学系に導かれる。4枚 + 4枚の鏡からなる多重反射システムは White セル<sup>8,16)</sup>を構成し、基本光路長3.0m, 最大反射回数69回により、最大光路長210.8mの光学系を形成している。この光学系を経た赤外光は補助光学系内に置かれた MCT 検出器(Hg-Cd-Te 半導体検出器, 液体窒素温度に冷却)で検出され、ミニコンピュータでデータ処理され、チャンバー内試料の赤外吸収スペクトルを与える。図3にチャンバー内と FTIR 及び補助光学系の配置を示す。多重反射鏡の支持台は床に固定の支持架台から立ち上がったインパールの脚によって支持されており、チャンバーの加熱等によるひずみの影響を受けないように工夫してある<sup>6)</sup>。

細胞暴露実験及び通常の光化学反応実験では  $1\text{ cm}^{-1}$ の分解能を使い、128回スキャンの積算(測定に要する時間=3.8分)により測定を行った。この測定システムにより、チャンバー内の化合物はガスを引き出すことなく経時的に定量分析できる。

## 2. 2 特性試験

**真空特性:** 真空排気特性は、通常の光化学実験に用いる乾燥空気1気圧から加熱焼き出しをしないで排気した場合、油回転ポンプにより約15分で0.1 Torr 以下まで排気後、油拡散ポンプに切り換えて約5分で  $(5\sim7)\times 10^{-5}$ Torr, 切り換え後約80分で  $2\times 10^{-6}$ Torr まで達する。光化学反応実験後は加熱(80°Cまで) 焼き出しによる真空排気を行い  $1\times 10^{-6}$  Torr 台の真空度まで排気した後、次の実験を行った。真空保持能力は、チャンバーを  $1\times 10^{-6}$ Torr まで加熱排気後温度を室温に戻すすべてのバルブを閉じた場合、チャンバー内の圧力上昇は約  $2\times 10^{-4}$ Torr/h であった。この値は外部からのリーク及び壁面からの放出ガスを含む値である。

**壁面特性:** チャンバー内壁面の活性を調べる目的で、オゾンの減衰試験を行った。オゾンの濃度変化のモニターは化学発光法によるオゾン計(モニターラボ社製, モデル-8440L型)を用いて行っ

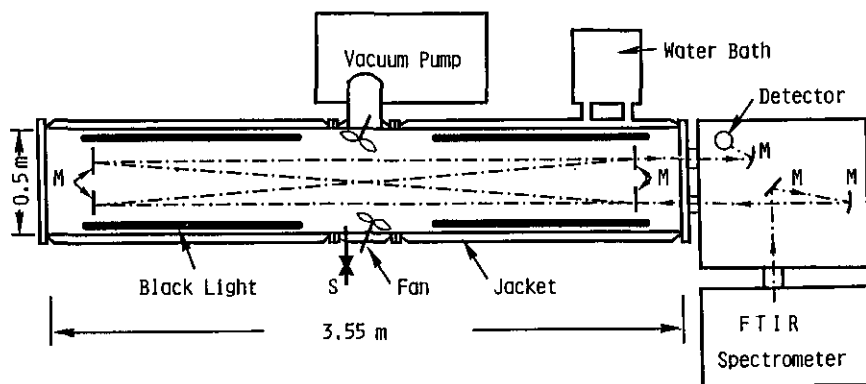


図 3 長光路フーリエ変換赤外分光分析用光学系概略図  
 Fig. 3 Schematic diagram of the optics for long-path FTIR spectrometry  
 M: Mirror, S: Gas Inlet

た。清浄空気を1気圧導入後、チャンバー内空気をかくはんしながら中央試料導入ポートよりオゾン発生器からのO<sub>3</sub>/O<sub>2</sub>混合気体を導入し、サンプリングはチャンバー中央部対面にある試料気体取り出しポートより行いオゾン計に導いた。この方法では試料導入後最初の10~15分間はオゾン計でみるオゾン濃度の急激な減少(非対数的)が認められるが、それ以後オゾン濃度の対数は時間に対して直線的に減少したのでそのこう配より1次減衰速度を求めた。種々条件下における減衰速度を表1にまとめた。大型スモッグチャンバーで観測されたと同様に、加熱真空排気後のオゾン減衰速度は大きく、オゾン暴露により壁面が脱活性され減衰速度は小さくなった。オゾン暴露後の減衰速度(0.1±0.03h<sup>-1</sup>)を大型スモッグチャンバーでの乾燥空気下における値(0.04~0.07h<sup>-1</sup>)と比較すると約2倍程度大きくなっている。大型チャンバー建設時の資料によれば<sup>6)</sup>、本チャンバーで使用したFEP-テフロンは大型チャンバーで使用されたPFA-テフロンよりもオゾン減衰速度は小さいが、本チャンバーでは比表面積の大きいこと、ブラックライトのチャンバー内設置に伴う支持台、電源、ケーブル、電流導入端子等の露出金属面が多くなっていることがオゾン減衰速度を大きくしているものと思われる。

**光源：**光源に用いたブラックライトランプの波長分布は300から430nmにわたり、約350nmにピーク出力を持つ。光源の強度を求める実験は、清浄空気1気圧中でNO<sub>2</sub>約0.24ppmの光分解反応を行い光定常状態におけるNO<sub>2</sub>、NO、O<sub>3</sub>の濃度(図4)からWuとNiki<sup>17)</sup>によって与えられた式を用いて計算して求めた。得られた値は全灯点灯時において0.22min<sup>-1</sup>であった。

通常、光源点灯によりチャンバー内の圧力の増加が認められ、循環水温度も上昇する。このため光化学実験の場合常に循環水に冷水を加えて流しながら温度調節を行う必要があった。この方法によりチャンバー壁面温度は±1℃の範囲で調節された。しかし、チャンバー内では局所的に(主にランプのフィラメント周辺)高温であると考えられる。



表 1 O<sub>3</sub> 壁面減衰速度<sup>a)</sup> (25°C)  
Table 1 Wall Decay Rates<sup>a)</sup> of O<sub>3</sub> at 25°C

[O <sub>3</sub> ] <sub>0</sub> /ppm	Decay Rate	
	Constant/h <sup>-1</sup>	Wall Condition
0.1	2.2	after baking
5	0.091	O <sub>3</sub> (>10ppm) treatment
5	0.12	O <sub>3</sub> (≅ 5 ppm) treatment
1	0.074	O <sub>3</sub> (≅ 5 ppm) treatment
0.1	0.13	after 1 h evac. at 25°C <sup>b)</sup>

a) under 1 atm. dry air  
b) 1 h evacuation was carried out at 25°C after O<sub>3</sub> decay experiment ([O<sub>3</sub>]<sub>0</sub> ≅ 1 ppm)

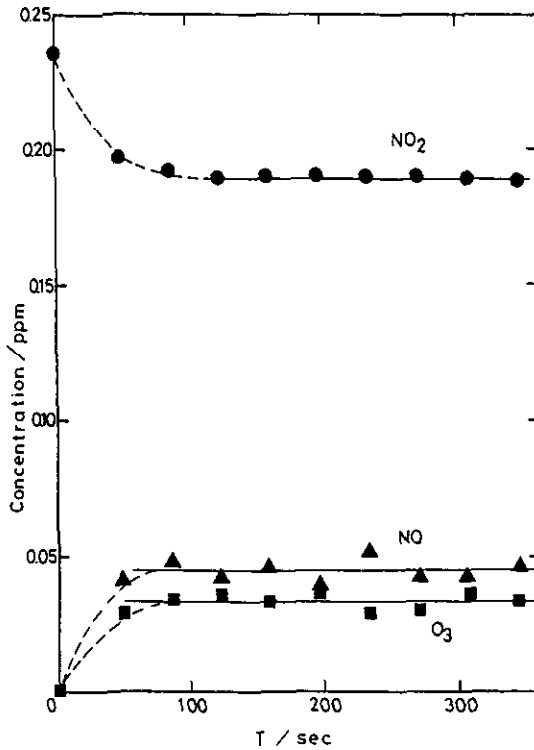


図 4 NO<sub>2</sub>(0.24ppm)-空気系光分解による k<sub>1</sub> 値の測定  
Fig. 4 Measurement of k<sub>1</sub> value by the photolysis of NO<sub>2</sub>(0.24ppm) in air

バックグラウンド反応性：加熱真空排気により清浄化を行った後、チャンバーに清浄空気を導入し光照射を行い、バックグラウンド空気の反応性を調べた。光照射により CO、CO<sub>2</sub> の著しい増加が見られた。図 5 に、光照射時間に対する CO、CO<sub>2</sub> 濃度の増加の様子を示した。いずれも光照射時間

に対してほぼ直線的に増加し、その生成速度はCOで約0.55ppm/h、CO<sub>2</sub>で0.29ppm/hと求められた。空気清浄装置から供給される空気中の不純物は、炭化水素<100ppbC、CO<sub>2</sub><1ppm、CO<10ppbとされている。この炭化水素は主としてCH<sub>4</sub>と考えられるが、CH<sub>4</sub>の光酸化による生成物としてCO、CO<sub>2</sub>は知られているものの、この不純物濃度では図5で見られた全炭素増加量は説明できないこと、CH<sub>4</sub>の赤外吸収に減少がみられないことからCO、CO<sub>2</sub>生成の原因は炭化水素の反応によるものではないと思われる。また、CO<sub>2</sub>増加については、吸着していた不純物CO<sub>2</sub>が光照射開始により脱着した可能性もあるが、CO<sub>2</sub>吸着は速くないこと及びCO<sub>2</sub>増加は長時間にわたりほぼ一定であることからこの可能性も否定される。現在のところCO、CO<sub>2</sub>源は不明であるが、常に一定の放出速度を示すこと及び大型スモッグチャンバーでこのような現象がみられない<sup>6)</sup>ことから、本チャンバー内部に付設されているランプ用の電線被覆の金属(電線)による不均一酸化反応等の可能性が考えられる。

これらガス放出による生体影響及び光化学反応研究への影響が考慮されなければならないが、ppm濃度領域ではCO、CO<sub>2</sub>の細胞への生体影響は知られていないことから、本チャンバーを用いて細胞暴露実験を行った。また反応研究に関しては、どのような炭化水素においても大気光酸化反応の最終生成物としてCO、CO<sub>2</sub>が生成することから、放出ガスの存在は全炭素収支を求める上で障害となるものの、通常光酸化過程を研究する上で大きな障害とはならないと判断される。したがって本チャンバーを使った研究ではこの制約を念頭において実験がなされなければならない。

**テスト反応：**本チャンバーを用いて行う光酸化反応が環境大気中における反応のモデル反応として一般性を持つかどうかを調べる目的で、大型スモッグチャンバーで詳細に研究されたプロピレン-NO<sub>x</sub>-乾燥空気系の光酸化反応を行い、大型スモッグチャンバーで得られたデータと比較した。図6はプロピレン(2.97ppm)-NO(1.67ppm)-乾燥空気(1気圧)系光酸化反応(温度25~26°C)における

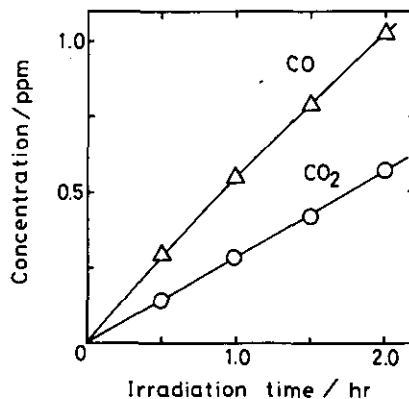


図 5 清浄空気光照射における原因不明のCOとCO<sub>2</sub>の増加

Fig. 5 CO and CO<sub>2</sub> increase by an irradiation of background air from an unidentified source

反応物,生成物の濃度を照射時間に対してプロットしたものである。比較のために大型チャンバーチャンバーにおけるプロピレン(3.05ppm)-NO(1.48ppm)-乾燥空気(1気圧)系におけるデータ<sup>18)</sup>を図7に示した。両図からみられるように本チャンバーでは最大オゾン濃度が大型チャンバーの値の約40%と小さいこと,放出ガスの効果によりCOが反応初期から増加していること,NO<sub>2</sub>が5時間照射以後も約0.2~0.15ppm残っていることを除き全体としてよく一致している。またパーオキシアセチルナイトレート(PAN)の最大濃度を与える時間が遅いこと及び最大生成濃度が比較

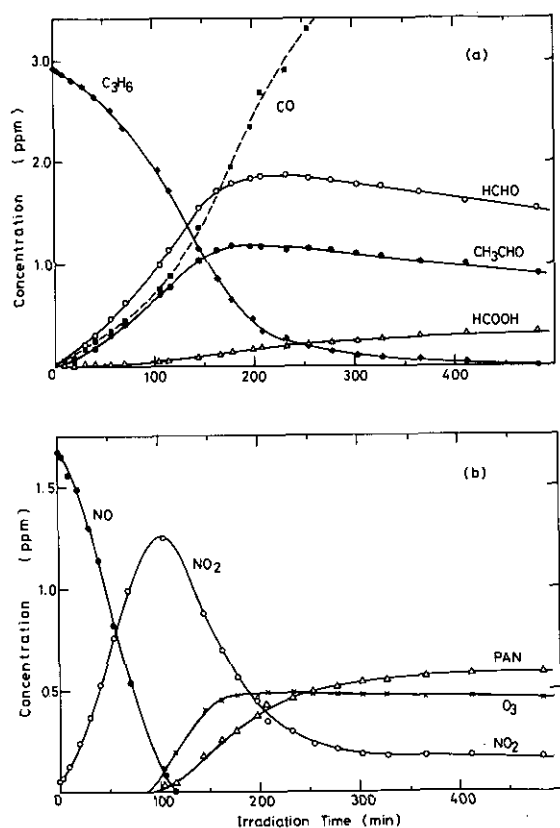


図 6 本光化学チャンバーにおける C<sub>3</sub>H<sub>6</sub> (2.97ppm)-NO(1.67ppm)-乾燥空気系の照射による反応物,生成物の経時変化

Fig. 6 Concentrations of reactants and products vs. irradiation time for the C<sub>3</sub>H<sub>6</sub> (2.97ppm)-NO (1.67ppm)-dry air system in the present photochemical chamber.

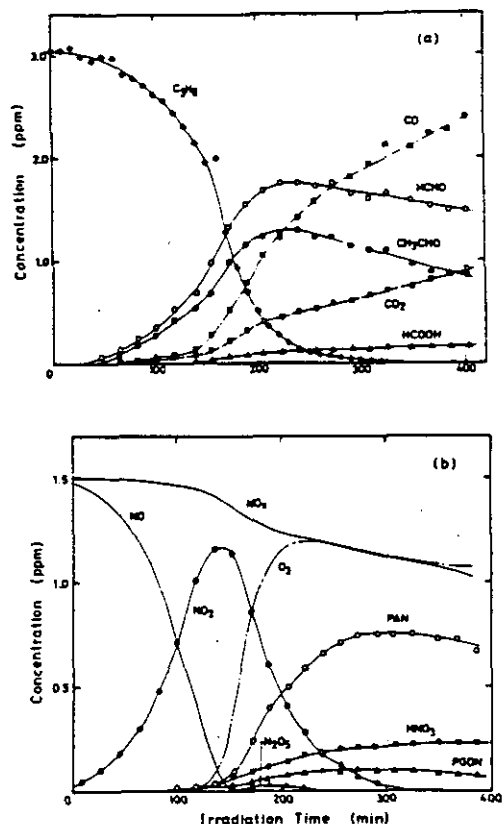
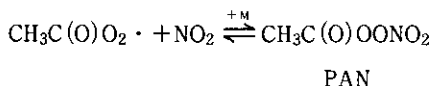


図 7 大型スモッグチャンバーにおける C<sub>3</sub>H<sub>6</sub> (3.05ppm)-NO(1.48ppm)-乾燥空気系の照射による反応物,生成物の経時変化<sup>18)</sup>

Fig. 7 Concentrations of reactants and products vs. irradiation time for the C<sub>3</sub>H<sub>6</sub> (3.05ppm)-NO (1.48ppm)-dry air system in the large smog chamber at N. I. E. S.<sup>18)</sup>

的低いことはNO<sub>2</sub>の残存と合わせて、チャンバー内空気平均温度がランプ点灯により壁面温度(25~26°C)よりも高くなっており、下式の平衡が大型チャンバーにおけるよりも左に寄っているためと考えられる。



### 2. 3 反応ガスの調整及び細胞暴露用光化学スモッグ・シミュレートガスの供給

細胞暴露実験のための反応ガスの調整は次のように行われた。前もって真空排気処理したチャンバーに清浄空気を740Torr(絶対圧)まで導入した後、反応物質の炭化水素及び窒素酸化物をチャンバーに導入する。反応物質はガラス製真空ラインの一定体積中にMKSバロトロン圧力計を用いて所定量を秤量され、加圧窒素でフラッシュしてチャンバーに導かれた。その後、培養細胞への暴露に必要なガス量を確保するため清浄空気をチャンバー内圧が大気圧より60Torr高くなるまで再び導入した。この間、チャンバー内を混合用ファンでかくはんし均一になったところ(通常2分後)で反応元ガスの赤外吸収スペクトルを測定し、その後ブラックライトランプを点灯して光酸化反応を開始した。チャンバー内の反応物及び生成物の濃度をFTIRにより経時的に測定する。目的とする生成物の濃度が十分な値に達したところで培養細胞への暴露を開始し、そこから暴露終了時までのチャンバー内空気を光化学スモッグ・シミュレートガスとして用いた。この間、FTIRによる成分の分析を逐次行い、成分濃度の決定を行った。なお、各成分濃度はガス供給による全圧減少を補正して計算された。

## 3 培養細胞へのガス暴露システム

ガス状物質を培養細胞に暴露する方法については主にNO<sub>2</sub>、O<sub>3</sub>などについて様々な方式が試みられている。これらの暴露方法の中には、比較的高濃度で数分間の暴露影響を調べたものと、比較的低濃度で長時間暴露を行ったものがある。しかし高濃度短時間暴露と低濃度長時間暴露とでは、生体影響の発現メカニズムにも違いが生ずる可能性が容易に想像されるので、本研究では光化学二次生成物の培養細胞への生物学的影響を検索するに当たって、できるだけ環境レベルに近づけた濃度及び暴露時間で検索することを目標とした。

### 3. 1 培養細胞

光化学スモッグ・シミュレートガスの生物学的影響を検索するためにChinese hamsterの肺由来のV79細胞株を使用した。V79細胞株は、速い増殖(倍加時間:15.5時間)、高いコロニー形成率、そして突然変異に対する高い感受性のために突然変異誘発実験に好んで用いられている。また、チャイニーズハムスターの細胞は染色体が大きく染色体数も少ないために染色体異常を観察するのに適

した細胞であるといえる<sup>19)</sup>。

V79 細胞は牛胎児血清(最終濃度10%)を添加した Eagles MEM 培養液で培養された。この細胞をガス暴露実験に供するに当たり、対数増殖期の V79 細胞をトリプシン処理により単離浮遊液とした後、ガラス製の培養角ビン(55×55×150mm, 内容積270ml)に3あるいは4×10<sup>5</sup>/bottle を播種し、10ml の培養液で約24時間単層培養を行う。ガス暴露直前に培養液を捨て、細胞表面のタンパク成分などを除くために、アミノ酸などを含まない10ml の Hanks 平衡塩類溶液(HBSS と略す)で一回洗浄する。それからガス暴露による細胞の乾燥及び pH の変動を防ぐために通常用いられている重曹(NaHCO<sub>3</sub>)の代わりに水酸化ナトリウム(NaOH)溶液で pH7.4 に調整した HBSS(NaOH-HBSS)を10ml 加える。ここで NaOH-HBSS を使用する理由は、細胞表面に付着した血清などタンパク成分は試料ガスの影響を防御する作用を持つことが認められていることから、これを十分に除き、試料ガスの影響をできるだけ細胞が鋭敏に感知するようにする必要からである。また、清浄空気暴露の場合には NaHCO<sub>3</sub> で PH を調整した HBSS では CO<sub>2</sub> が抜け出し、pH がアルカリ性に傾むくために NaOH-HBSS を使用することとした。

なお、一回の暴露実験に細胞培養した培養角ビンを2本用意し、1本はチャンバーで調製された試料ガスの暴露に供し、もう1本は対照として清浄空気の暴露に供した。

### 3. 2 ガス暴露システム

ガス暴露システムは光化学スモッグチャンバーからの試料ガス及び対照としての清浄空気のそれぞれを培養角ビンに導入して細胞に暴露する部分と、暴露ガスの流量を調節する部分から成り立っている。

用意した2本の培養角ビンの口にガス暴露用に改良した特殊な回転キャップ(ベルコ社の Feed Head を改良)を取り付け(図8)、さらに真ちゅう製の回転ドラム(外径108mm, 長さ85mm)に培養角ビンをセットする。インキュベーター(37°C)内の回転ビン培養装置(ベルコ社)上に回転ドラムを置き、配管されているテフロン管(外径6mm)を回転キャップのガス導入口とガス排出口にそれぞれ接続する(図9)。試料ガスと清浄空気は図10の模式図に示すような培養細胞へのガス暴露システムで流し、細胞に暴露する。すなわち、光化学スモッグチャンバーで生成された試料ガスはテフロン管によりインキュベーター内の培養角ビン SB1 に導入され、細胞に暴露させた後、湿気除去、トラップ→流量計 RM1 (0~240ml/min, ウエシマ製)→ ニードルバルブ NV1 → ダイヤフラム型エアープンプ P (M & F エンタープライズ社, モデル LVM-10) の順に通って排気される。一方、空気清浄装置で浄化された清浄空気はニードルバルブ NV2 を通って培養角ビン SB2 に導入され、細胞に暴露させた後、湿気除去トラップ→流量計 RM2 (RM1 と同型) の順に通って排気される。ガス流量の調節はニードルバルブの開閉により一定に保たれる。なお、湿気除去トラップはガス暴露中に培養角ビンの溶液から発生する水蒸気が流量計内で結露して流量測定のを妨げになるのを防ぐ目的で取り付けられた。

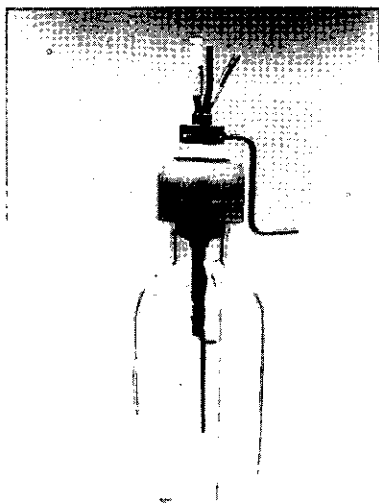


図 8 回転キャップ (改良 Feed Head) がかぶせられた培養角ビン  
Fig. 8 Square culture bottle which was covered with a roller cup  
(modified Feed Head)

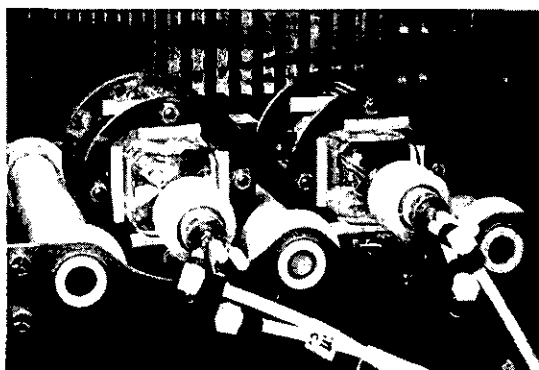


図 9 回転装置上の培養角ビンを取り付けた回転ドラム  
Fig. 9 Roller drums which was each fitted with a square culture bottle on the roller  
apparatus

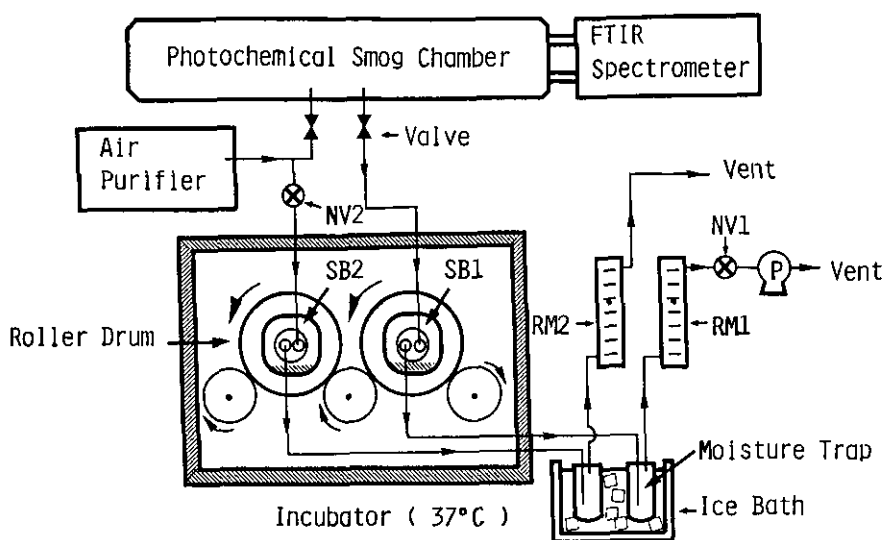


図 10 光化学スモッグ・シミュレートガスの培養細胞へのガス暴露システムの模式図

Fig. 10 Schematic diagram of the system for gas exposure on cell cultures

SB 1 and SB 2; square culture bottle, NV 1 and NV 2; flow-regulating needle valve, RM 1 and RM 2; gas flow rotameter, p; diaphragm-type pump.

### 3. 3 暴露方法の検討

光化学スモッグ・シミュレートガスの培養細胞に及ぼす生物学的影響を、できるだけヒトが現実に暴露されている状態に近い条件で、検索するためには、培養細胞への暴露方法を検討する必要がある。このような暴露条件の設定に当たって重要なことは、比較対照のために同一暴露条件で暴露される清浄空気により培養細胞が影響を受けず、かつ試料ガス特有の生物学的影響を鋭敏に感知できる暴露条件を設定することである。そこで、我々は光化学スモッグ・シミュレートガスの生体影響を環境中の濃度レベルに近い状態で検討するには数時間の単位で培養細胞に試料ガスを暴露することが望ましいという見地から、まず2時間という暴露時間を設定した。

一方、試料ガス中に含まれる不安定な化合物、例えば  $O_3$ 、PAN などは細胞に到達するまでに配管壁などへの接触により減衰するものと思われ、それらの減衰はガス流量に反比例して少なくなると思われる。他方、光化学スモッグチャンバーからの供給可能な試料ガス量はチャンバーの容積により制限される。そこで本研究では流速と減衰率との兼ね合い、培養角ビンにおける換気回数、光化学スモッグチャンバーからの供給可能な総ガス量、暴露時間などを考慮して培養角ビンへのガス流量を、毎分200mlに設定した。なお、この設定値において換気回数すなわち1時間以内に培養角ビン内に導入されるガスが何回入れ替わるかという回数44となる。

一定の速度で培養角ビンを回転させ、細胞を底面の溶液中に浸し、ガス暴露中の培養細胞を乾燥による傷害から守る方法として間歇(周期)暴露方式が採用された。この方式では培養角ビンの回転

速度を変えることにより細胞のガスにさらされる周期時間が変化する。例えば、回転速度を落とすと一回転当たりに細胞がガスにさらされる時間は長くなり、試料ガスの影響は強く表れることが推察される。一般に培養細胞の多くは溶液におおわれて増殖する。そのため、空気にさらされるなどの乾燥状態は好ましくなく、長時間空気にさらされることによる傷害が予想される。したがって、先に設定された暴露時間（2時間）と毎分200mlというガス流量の条件を踏まえて、清浄空気の暴露による細胞への影響がみられず、かつ試料ガス特有の影響を感度よく検索できる回転速度を決める必要がある。そこで片方の培養角ピンの細胞には清浄空気を回転速度0.25rpmの条件で暴露し、もう片方は培養角ピンを回転させずに2時間の間、細胞が溶液(NaOH-HBSS)におおわれた状態を保ち、その後の培養における増殖率を比較する実験を行った。培養角ピンの0.25rpmの回転速度は、細胞が4分間のうち3分間はガスにさらされ、残り1分間は溶液に浸されることを意味する。そしてこのサイクルを1周期とし、これを2時間にわたり繰り返すわけである。結果は2時間の処理期間中、培養角ピンの溶液(NaOH-HBSS)のpHは両方ともほとんど変動せず、清浄空気に暴露された細胞と2時間溶液におおわれたままの細胞について24時間培養後の細胞数を比較したところ、表2に示すように3回の実験とも両者にほとんど差はみられなかった。以上の条件による清浄空気の暴露は、細胞の増殖に影響を及ぼさないことが明らかになり、光化学スモッグ・シミュレートガスの暴露方法として採用することとした。

表 2 V79 細胞の増殖に及ぼす清浄空気暴露の影響

Table 2 Effect on proliferation of V79 Cells by exposure to purified air

Experiment	Treatment	Number of cells <sup>a</sup> (x 10 <sup>5</sup> cells/bottle)	Control ratio
1	Control <sup>b</sup>	3.48±0.07	—
	Exposure to air	3.50±0.04	1.01
2	Control	4.32±0.13	—
	Exposure to air	4.49±0.07	1.04
3	Control	3.56±0.09	—
	Exposure to air	3.64±0.08	1.02

<sup>a</sup> Cells were cultured for 24 h after treatment and were counted by Coulter counter (mean ± SD, n=4).

<sup>b</sup> Cells were continuously covered with NaOH-HBSS for 2 h.

これまで、ガス状大気汚染物質を培養細胞に1時間以上という比較的長時間暴露を試みた報告の中で、Guerrero<sup>12)</sup>やWenzel<sup>13)</sup>によるO<sub>3</sub>の暴露方式は単層培養された細胞を周期的に溶液に浸しながらガスを暴露する点で、我々の暴露方式と似ている。彼らの方式では細胞を1分間に30秒間ガスにさらし、30秒間溶液にひたす。更に、暴露ガスを加湿することにより細胞の乾燥を防ぎ、また5%CO<sub>2</sub>ガスを含む空気を通気することにより細胞を浸す溶液のpHを一定に保つことを試みている。それに比べ、我々の方式は細胞は4分間に3分間の割合でガスにさらされるが、暴露する



試料ガスは加湿されておらず、暴露ガスに CO<sub>2</sub> を添加することもなく細胞の pH の保持を NaOH-HBSS の作用のみで行っている。このような暴露条件にもかかわらず清浄空気の暴露が培養細胞に影響(傷害)を及ぼさない我々の暴露方法は、暴露ガスに加湿や CO<sub>2</sub> の添加など複雑な操作を加えることなしに目的とする試料ガスの影響を検索できるという利点を有しており、不安定な化合物が含まれている光化学スモッグ・シミュレートガスのようなガス暴露実験には適した方法であるといえる。また、細胞への暴露を培養角ビン一本で行う方式は検体数が少ないという欠点もあるが、比較的低流量(毎分200ml)のガスで暴露実験が可能であり、本チャンバーのような小型の光化学スモッグチャンバーで生成される光化学スモッグ・シミュレートガスや多量の試料ガスを調整できない化合物の暴露実験には適した方法であると思われる。

## 謝 辞

V79 培養細胞を分与していただき、また培養細胞へのガス暴露装置の開発に当たって有益な御助言をいただきました東京大学医科学研究所、黒木登志夫教授に深く感謝いたします。

## 引 用 文 献

- 1) 我が国の光化学スモッグによる健康影響についての臨床報告としては、本報告書「I 研究の経緯」の引用文献参照。
  - (a) 三上理一郎・工藤翔二 (1973) : わが国におけるいわゆる光化学スモッグによる急性障害. 日本臨床, **31**, 2039-2047.
  - (b) 荒記俊一・阿万忠之・牛尾耕一・本間徹男 (1974) : いわゆる「光化学スモッグ(東京スモッグ)症」の集団発生症例にみられた呼吸性アルカローシス. 日本公衛誌, **21**, 75-80.
  - (c) 牧野国義・溝口 勲 (1975) : 光化学スモッグによる自覚症調査について. 日本公衛誌, **22**, 421-430.
  - (d) 工藤翔二・三上理一郎・溝口 勲・小久保雅子・今関鎮徳 (1977) : 大宮市 M 中学におけるオキシダント高濃度下の自覚症状発現の特徴—とくに屋外運動との関連について—. 大気汚染研究, **11**, 456-462.
  - (e) 足立豊彦・中島泰知 (1974) : 光化学スモッグによる重症被害と臨床検査. 臨床化学, **3**, 257-267.
- 2) (a) 楠本繁子・成山康子・米川恵都子・織田 肇・中島泰知 (1976) : 光化学オキシダントおよびオゾン短時間暴露のマウスに及ぼす影響. 大気汚染研究, **11**, 70-80.
  - (b) 楠本繁子・織田 肇・野上浩志・中島泰知 (1983) : 光化学オキシダントおよびオゾン短時間暴露のマウスの血液並びに直腸温に及ぼす影響. 大気汚染学会誌, **18**, 444-452.
- 3) (a) Shepson, P. B., T. E. Kleindienst, E. O. Edney, G. R. Namie, J. H. Pittman, L. T. Cupitt and L. D. Claxton (1985) : The mutagenic activity of irradiated toluene/NO<sub>x</sub>/H<sub>2</sub>O/air mixtures. Environ. Sci. Technol., **19**, 249-255.
  - (b) Kleindienst, T. E., P. B. Shepson, E. O. Edney, L. T. Cupitt and L. D. Claxton (1985) : The mutagenic activity of the product of propylene photooxidation. Environ. Sci. Technol., **19**, 620-627.

- 4) Akimoto, H. (1981): Measurement of photochemicals in air. *In: Air/Particulate Instrumentation and Analysis*, P. N. Cheremisinoff, (Ed) ., Ann Arbor Science, 215-273.
- 5) 本報告書「II-1 光化学二次汚染物質の化学組成」の引用文献参照.
- 6) (a) Akimoto, H., M. Hoshino, G. Inoue, F. Sakamaki, N. Washida and M. Okuda (1979): Design and characterization of the evacuable and bakable photochemical smog chamber. *Environ. Sci. Technol.*, **13**, 471-475.  
(b) 秋元 肇・星野幹雄・井上 元・酒巻史郎・鷺田伸明・奥田典夫 (1978): 真空排気型スモッグチャンバーの設計とその特性. 国立公害研究所研究報告, 第4号, 17-38.
- 7) Winer, A. M., R. A. Graham, G. J. Doyle, P. J. Bekowies, J. M. McAfee and J. N. Pitts, Jr. (1980): An evacuable and thermostatted environmental chamber and solar simulator facility for the study of atmospheric chemistry. *Adv. Environ. Sci. Technol.*, **10**, 461-511.
- 8) Hanst, P. L. (1971): *Spectroscopic methods for air pollution measurement*. *Adv. Environ. Sci. Technol.*, **3**, 91-213.
- 9) Tsuda, H., A. Kushi, D. Yoshida and F. Goto (1981): Chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges induced by gaseous nitrogen dioxide in cultured Chinese hamster cells. *Mutat. Res.*, **89**, 303-309.
- 10) Fetner, R. H. (1962): Ozone-induced chromosome breakage in human cell cultures. *Nature (London)*, **194**, 793-794.
- 11) Pace, D. M., P. A. Landolt and B. T. Aftonomos (1969): Effects of ozone on cells *in vitro*. *Arch. Environ. Health*, **18**, 165-170.
- 12) Guerrero, R. R., D. E. Rounds, R. S. Olson and J. D. Hackney (1979): Mutagenic effects of ozone on human cells exposed *in vivo* and *in vitro* based on sister chromatid exchange analysis. *Environ. Res.*, **18**, 336-346.
- 13) Wenzel, D. G., J. J. Kotek, D. L. Morgan and E. J. Wrobel (1979): An ozone-generating system and chamber for testing injury to cultured cells. *Arch. Environ. Health*, **34**, 454-460.
- 14) Bolton, D. C., B. D. Tarkington, Y. C. Zee and J. W. Osebold (1982): An *in vitro* system for studying the effects of ozone on mammalian cell cultures and viruses. *Environ. Res.*, **27**, 466-475.
- 15) Samuelsen, G. S., R. E. Rasmussen, B. K. Nair and T. T. Crocker (1978): Novel culture and exposure system for measurement of effects of air borne pollutants on mammalian cells. *Environ. Sci. Technol.*, **12**, 426-430.
- 16) White, J. U. (1942): Long optical paths of large aperture. *J. Opt. Soc. Am.*, **32**, 285-288.
- 17) Wu, C. H. and H. Niki (1975): Methods for measuring NO<sub>2</sub> photodissociation rate. Application to smog chamber studies. *Environ. Sci. Technol.*, **9**, 46-52.
- 18) (a) Akimoto, H., H. Bandow, F. Sakamaki, G. Inoue, M. Hoshino and M. Okuda (1980): Photooxidation of the propylene-NO<sub>x</sub>-air system studied by long-path fourier transform infrared spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, **14**, 172-179.  
(b) 秋元肇・坂東博・酒巻史郎・井上元・星野幹雄・奥田典夫 (1979): 長光路フーリエ変換赤外分光器によるプロピレン-窒素酸化物-空気系光酸化反応生成物に関する研究. スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物光化学反応の研究. 国立公害研究所研究報告, 第9号, 9-27
- 19) 黒木登志夫 (1981): V79 細胞. 組織培養, **7**, 14-19.

### Ⅲ-2

## 芳香族炭化水素の光酸化反応機構

### Reaction Mechanisms for the photooxidation of Aromatic Hydrocarbons

坂東 博<sup>1</sup>・鷺田伸明<sup>1</sup>・秋元 肇<sup>1</sup>

Hiroshi BANDOW<sup>1</sup>, Nobuaki WASHIDA<sup>1</sup> and Hajime AKIMOTO<sup>1</sup>

#### 要 旨

内容積0.79m<sup>3</sup>の真空排気型スモッグチャンバーを用い、芳香族炭化水素-窒素酸化物-空気系光酸化反応を長光路FT-IRを分析手段として研究した。研究した芳香族炭化水素は、ベンゼン、トルエン、*o*-、*m*-、*p*-キシレン及び1,2,3-、1,2,4-、1,3,5-トリメチルベンゼンである。芳香環開裂反応生成物として $\alpha$ -ジカルボニル化合物の生成が共通に見いだされ、その相対的生成比を説明するための反応機構と一般則が提案された。その他の環開裂反応生成物として、ベンゼン、トルエン、*o*-キシレンから無水マレイン酸が、*p*-キシレン及び1,2,4-トリメチルベンゼンから3-ヘキセン-2,5-ジオンが検出された。光酸化反応全体に対するこれら環開裂反応の比率は、ベンゼン：15~20%、トルエン：29%、*o*-、*m*-、*p*-キシレン：41、55、36%、1,2,3-、1,2,4-、1,3,5-トリメチルベンゼン：70、56、64%であった。

#### Abstract

Photooxidation of aromatic hydrocarbons-NO<sub>x</sub>-air system was studied by long-path FT-IR using a 0.79m<sup>3</sup> (in volume) evacuable smog chamber. Aromatic hydrocarbons studied were benzene, toluene, *o*-, *m*-, *p*-xylenes, and 1,2,3-, 1,2,4-, 1,3,5-trimethylbenzenes.  $\alpha$ -Dicarbonyl compounds were observed as aromatic ring-cleavage products in common, and a generalized reaction mechanism of the ring-cleavage process is proposed in order to explain the relative yield of the products. Other ring-cleavage reaction products observed in this study were maleic anhydride in the case of benzene, toluene, and *o*-xylene, and 3-hexene-2,5-dione in the case of *p*-xylene and 1,2,4-trimethylbenzene. The fraction of the ring-cleavage reaction to the total photooxidation reactions were as follows: 15~20% for benzene; 29% for toluene; 41, 55, and 36% for *o*-, *m*-, and *p*-xylenes, respectively; 70, 56, and 64% for 1,2,3-, 1,2,4-, and 1,3,5-trimethylbenzenes, respectively.

1. 国立公害研究所 大気環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2  
Atmospheric Environmental Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi,  
Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

## 1 はじめに

芳香族炭化水素、特にアルキルベンゼン類は有機溶剤<sup>1)</sup>、ガソリン<sup>2)</sup>あるいは自動車排気ガス中<sup>3)</sup>の主要な成分として環境大気中に放出されていることが知られている。環境大気成分分析の結果から、汚染都市大気中では全炭化水素のうち20~50% (体積比) 程度がアルキルベンゼン類であることが報告されている<sup>4)</sup>。殊に、いわゆる光化学スモッグ発生頻度の高い夏期においてその環境濃度が高い<sup>4a)</sup>ことは、光化学スモッグ解明の上で芳香族炭化水素の果たしている役割を明らかにする必要があることを示している。さらに、炭化水素類の光酸化反応性を主に決めているOHラジカルとの反応速度定数を比較すると、ほとんどのアルキルベンゼンは飽和炭化水素類よりも大きな速度定数を持ち、従来光化学大気汚染現象において主要な要因と考えられてきたオレフィン系炭化水素類と同程度の速度定数を有することが、近年の反応速度研究<sup>5)</sup>から明らかになってきた。したがって、光化学反応性の上からも、光化学大気汚染現象におけるアルキルベンゼン類の果たしている役割の重要性が予想される<sup>6)</sup>。

アルキルベンゼン-窒素酸化物-空気系における光酸化反応生成物及びその生成機構に関する研究は、オレフィン系炭化水素の場合に比較して従来たち遅れていた。その主な理由は、アルキルベンゼンの光酸化反応が多岐にわたる反応生成物を与え、その同定、定量が容易ではなかった点にあると考えられる。すなわち、(1) フェノール類、ニトロ化物等の芳香環酸化生成物<sup>7-11)</sup>、(2) ベンズアルデヒド類、ベンジルナイトレート類等の側鎖の酸化による生成物<sup>7-11)</sup>、(3) 芳香環開裂による生成物 (グリオキザール類)<sup>12-15)</sup>、(4) その他分解生成物 (ホルムアルデヒド、PAN、ギ酸、CO、CO<sub>2</sub>等)<sup>16-18)</sup> が反応生成物としてこれまで報告されている。これらの中で、(1)、(2) の芳香環を残した反応生成物及び低分子量の分解生成物 (4) については比較的早くから分析がなされ、その収量も調べられた。例えば、Hoshinoら<sup>9)</sup>及びAkimotoら<sup>10)</sup>はトルエンの光酸化反応で、ベンズアルデヒド、クレゾール類、ニトロトルエン類、ニトロクレゾールを生成物として同定し、その相対的収率に及ぼすNO<sub>x</sub>、O<sub>2</sub>の影響を検討することから、これら芳香族生成物を与える反応機構を提案した。またKopczynski<sup>16)</sup>は、種々のアルキルベンゼン-窒素酸化物-空気系光酸化反応を長光路赤外分光法を分析手段として研究し、アルデヒド類、CO<sub>2</sub>、CO、ギ酸及びPANを反応生成物として同定した。

これに対して、環開裂反応に関しては1974年にNojimaら<sup>12)</sup>によってベンゼン、トルエン、キシレンの光酸化反応で環開裂によると思われるグリオキザール、メチルグリオキザール、ピアセチルの生成が報告されたものの、その後研究が進んでいなかった。最近、Darnallら<sup>13)</sup>は*o*-キシレン-NO<sub>x</sub>-空気系光酸化反応においてガスクロマトグラフィ(GC)及びガスクロマトグラフィー質量分析法(GC-MS)を使ってピアセチルを同定・定量し、その収率が0.18±0.04であると報告した。またTakagiら<sup>14)</sup>は光イオン化質量分析法(PIMS)を応用して、GC-PIMSにより*o*-キシレン(〜100ppm)-窒素酸化物(20ppm)-空気系光酸化反応を研究し、芳香族生成物、アルデヒド類、グリオキザール類の定量分析を行った。得られた収率はグリオキザール、メチルグリオキザール、ピアセ

チルに対して各々0.85, 0.14, 0.26であった。この値と Nojima ら<sup>12)</sup>のデータから計算される *o*-キシレンからのグリオキザール類の相対的収率 (1:20:6) とは一致しない。これらの研究では、低濃度で生成するグリオキザール類分析のために溶液中での誘導体形成<sup>12)</sup>あるいは、液体窒素温度に冷却したトラップに生成物を濃縮する<sup>13)</sup>という前処理をした後に試料を分析に供する方法をとっているため、誤差の入り込む可能性が高いと考えられる。

環開裂反応は、芳香族生成物生成過程に比べより多くのラジカル種を生成する可能性があると考えられ、芳香族炭化水素の光酸化反応の中でオゾン生成能や光化学反応性を決める最も重要な要素と考えられる。本研究ではこれらの点を考慮して、研究の遅れていたアルキルベンゼン-窒素酸化物-空気系光酸化反応を環開裂反応に中心をおいて研究した。装置としては、本報告書Ⅲ-1章で述べた光化学チャンバーを用い、チャンバー内組み込みの長光路フーリエ変換型赤外分光法 (FT-IR) を用いて分析を行った。この方法を使うことにより、生成物の直接測定が可能となり、上述した前処理による誤差の可能性を減少することができ、より信頼性の高いデータが得られると期待される。芳香族炭化水素としてベンゼン、トルエン、*o*-, *m*-, 及び *p*-キシレン、1,2,3-, 1,2,4-, 及び1,3,5-トリメチルベンゼンについて研究を行った。グリオキザール類の定量分析から、各アルキルベンゼンにおいて全光酸化反応に占める環開裂反応の割合を求めた。また、グリオキザール類の相対的収率を研究した全アルキルベンゼンにわたって合理的に説明する反応の一般則を導いた。

## 2 実験

用いた光化学チャンバーは本報告書のⅢ-1で述べたとおりである。反応物、生成物はチャンバー内組み込みの長光路フーリエ変換赤外分光法により分析した。

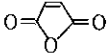


反応試料の調整は次のようにして行った。あらかじめ真空排気しておいたチャンバー (通常  $1 \times 10^{-6}$  Torr 以下まで真空排気) に空気清浄装置 (スタンダードテクノロジー社、モデルSGPU-21) からの清浄空気を740Torr まで導入する。次に、所定量のアルキルベンゼンを既知体積中に MKS バラトロン圧力計を使って秤量した後、加圧窒素 (日本酸素製、純ガスB) でフラッシュしてチャンバー内に導入、チャンバー内圧力が 750 Torr になるまでフラッシュした。

この混合気体を FT-IR で測定し、後にアルキルベンゼンの濃度減少を求める際の標準スペクトルとして用いた。FT-IR 測定後、所定量の窒素酸化物を同様にして秤量、フラッシュした (チャンバー内全圧 760 Torr まで) 後ブラックライトランプ (東芝 FL40BLB, 40W  $\times$  14本, NO<sub>2</sub> 光分解速度定数  $0.22 \text{ min}^{-1}$ ) を点灯して光化学反応を開始した。FT-IR の測定は分解能  $1 \text{ cm}^{-1}$  で 128 回のスキャンを積算 (所要時間 3.8 分) して行い、5~20 分間隔で反応物・生成物の濃度の時間変化を調べた。反応中、チャンバー内は混合用ファンでかくはんされた。反応中のチャンバー温度は  $22.5 \pm 1^\circ \text{C}$  に調節した。

反応生成物の定量は、同じチャンバーを用いて測定した各化合物の濃度既知の標準赤外吸収スペ

クトルを用いて、反応生成物の赤外吸収スペクトルからの引き算のファクターから計算して行った。スペクトルの引き算を行うに当たって、主に注目した各生成物の赤外域における特性吸収帯を表1に示した。

表 1 本研究で用いた各反応生成物の特性吸収  
Table 1 The characteristic band of each product used to determine the concentration

Product	Absorption band	wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )
formaldehyde HCHO	$\nu_{\text{C-H}}$	2781.0, 2778.5
formic acid HCOOH	$\nu_{\text{C-O}}$	1105.2
peroxyacetyl nitrate (PAN) $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{OONO}_2$	$\nu_{\text{C-O}}$	1160 <sup>a)</sup>
glyoxal $(\text{CHO})_2$	$\nu_{\text{C-H}}$	2900-2750
methylglyoxal $\text{CH}_3\text{COCHO}$	$\nu_{\text{C-H}}$ in -CHO	2860-2800
biacetyl $(\text{CH}_3\text{CO})_2$	skeletal vib.	1120
maleic anhydride (MAH) 	$\nu_{\text{C-O}}$	1805.3, 840.6
benzaldehyde 	$\nu_{\text{C-H}}$ in -CHO	2750-2710
tolaldehydes  -CHO	$\nu_{\text{C-H}}$ in -CHO	~2730

a) The standard spectrum of PAN was obtained by the reaction of  $\text{CH}_3\text{CHO} + \text{N}_2\text{O}_5$  ( $\text{NO}_3$ ) in 101 kPa (1 atm) air. The absolute concentration of PAN was determined by using the reported absorption coefficient<sup>19)</sup>.

反応に用いたアルキルベンゼン類は市販特級(和光純薬)のものを減圧下で脱ガスして用いた。NO及びNO<sub>2</sub>はMatheson社製Research gradeのものをを用いた。標準スペクトルに用いた各化合物は市販特級のものを脱ガスして用いた。ホルムアルデヒドはパラホルムを加熱(~50°C)して得られる単量体、グリオキザール及びメチルグリオキザールは市販の水溶液を各々モレキュラーシーブ及びP<sub>2</sub>O<sub>5</sub>を用いて脱水して得られる試料を、いずれも通常液体窒素トラップで保存しておき必要の際に昇温して取り出し用いた。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 トルエン及びベンゼン

##### トルエン光酸化反応生成物

トルエン(4 ppm)-NO(0.17~1.50ppm)-NO<sub>2</sub>(0.50~1.50ppm)-空気(1気圧)の光酸化反応により分解生成物としてホルムアルデヒド、ギ酸、パーオキシアセチルナイトレート(PAN)、環開裂反応生成物としてグリオキザール、メチルグリオキザール、無水マレイン酸(MAH)、芳香族生成

物としてベンズアルデヒドの生成が観測された。このほか、光照射により  $\text{CO}$ 、 $\text{CO}_2$  の増加が観測されたが、本チャンバーでは清浄空気の光照射で  $\text{CO}$ 、 $\text{CO}_2$  の増加がみられることから、これらの定量分析は行われなかった。また、長時間の光照射で *m*-ニトロトルエンに相当する赤外吸収が観測されたが、吸収が小さく定量されなかった。これら本研究で観測された生成物のほかに、トルエンからクレゾール、ベンジルナイトレート、ニトロクレゾールが生成することが報告されている<sup>9)</sup>が、本研究では FT-IR により同定できるだけの収量では得られなかった。

図 1 にトルエンの光酸化反応生成物の赤外吸収スペクトル ( $3000\sim 2700\text{ cm}^{-1}$ , C-H伸縮振動領域)と、標準スペクトルの減算によるグリオキザール、メチルグリオキザールの定量の例を示す。a はトルエン (4.0ppm)-NO (0.17ppm)-NO<sub>2</sub> (0.50ppm)-空気 (1 気圧) の混合物を 217 分光照射したときの反応生成物の赤外吸収スペクトル (トルエン, NO, NO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O の寄与を引いたもの) である。このスペクトル中で顕著にみられる鋭い吸収は主にホルムアルデヒドによるものであり、また  $2730\text{ cm}^{-1}$  付近にみられる構造のない幅広の小さい吸収はベンズアルデヒドに帰属される。図 1 a のスペクトルから、表 1 に示した特性吸収をもとにホルムアルデヒド、ギ酸、ベンズアルデヒド及び PAN の吸収を引くと、b のスペクトルを得る。スペクトル b で  $2880\sim 2790\text{ cm}^{-1}$  にかけてみられる細かな構造は、c に示したグリオキザールの標準スペクトルの振動・回転構造によく一致しており、この構造がみられなくなるまでスペクトルの減算をすることによりグリオキザールの濃度が求められた。そのようにして得られたスペクトル d は e に示したメチルグリオキザールの吸収とよく一致する吸収を示す。スペクトル f は d-e を示したものである。図から明らかなように以上の反応生成物のスペクトル減算により、このスペクトル領域ではほとんど顕著な吸収がみられなくなる程度まで反応生成物が説明された。

図 2 a は図 1 f に対応する赤外吸収スペクトルの  $2000\sim 800\text{ cm}^{-1}$  領域を示したものである。1800, 900,  $840\text{ cm}^{-1}$  にみられる鋭い吸収は無水マレイン酸の標準スペクトル (図 2 b) に良く一致しており、トルエン光酸化により C<sub>4</sub>化合物である無水マイレン酸の生成していることが確認された。トルエン光酸化反応におこる無水マレイン酸の生成は、これまで花井ら<sup>20)</sup>による GC-MS での検出の報告があるだけであった。図 2 c は a-b を示しているが、図中矢印で示した亜硝酸による吸収スペクトルのほかに、1800 及び  $1700\text{ cm}^{-1}$  付近に比較的強い吸収が残っている。特性吸収としてこの領域に強い吸収帯を持つものとしてはカルボニル化合物が考えられる。1800  $\text{cm}^{-1}$  付近の吸収は主として水素結合をしていないカルボン酸<sup>21)</sup>、酸無水物\*、あるいはパーオキシアシルナイトレート化合物<sup>19)</sup>の C=O 伸縮振動に帰属されるものである。一方  $1700\text{ cm}^{-1}$  付近の吸収はアルデヒド、ケトン、あるいはジカルボニル化合物によるもの\*と思われる。したがって、図 2 c に示したスペクトルは上記の

\*本研究で使用した無水マレイン酸、メチル無水マイレン酸、ジメチル無水マイレン酸はいずれも  $1790\sim 1805\text{ cm}^{-1}$  の範囲に C=O 伸縮振動による強い吸収を示した。ジカルボニル化合物であるグリオキザール、メチルグリオキザール、ピアセチルはいずれも約  $1730\text{ cm}^{-1}$  に C=O による吸収帯を持つ。また 3-ヘキセン-2,5-ジオンは  $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$  に C=O による吸収を持つ。

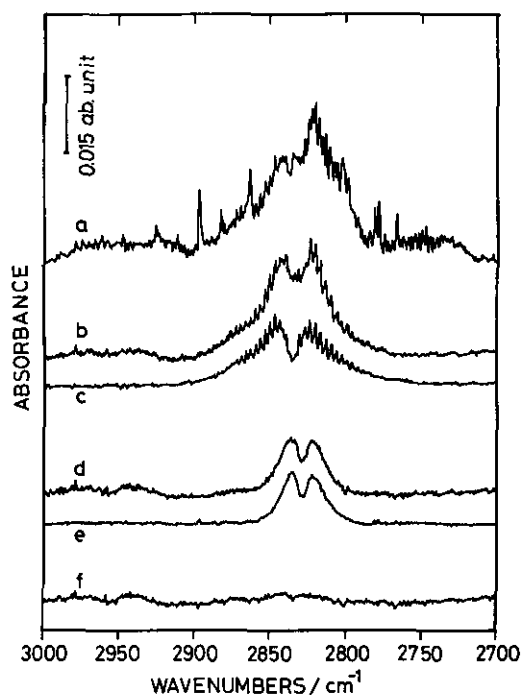


図 1 2700-3000 $\text{cm}^{-1}$  領域(C-H伸縮振動領域)における反応生成物の典型的な赤外吸収スペクトルとスペクトル減算の様子  
 a : トルエン (4.0ppm)-NO (0.17ppm)-NO<sub>2</sub> (0.50ppm)-空気 (1 気圧)系光酸化反応における生成物のスペクトル, 光照射開始後217分。b : スペクトル a よりホルムアルデヒド, ギ酸, PAN, ベンズアルデヒドの寄与を引いた後のスペクトル。  
 c : グリオキザール標準スペクトル。d : b-c 差スペクトル。e : メチルグリオキザール標準スペクトル。f : d-e 差スペクトル。

Fig. 1 Typical IR absorption spectrum of the products and spectral subtractions in the frequency region of 2700-3000 $\text{cm}^{-1}$  (the region of the C-H stretchig)

同定された反応生成物以外にもカルボニル化合物が生成していることを示しているが、本研究ではこれらの吸収帯について特定の化合物に同定することはできなかった。

図 3 及び図 4 はトルエン (4.01ppm)-NO (1.50ppm)-NO<sub>2</sub> (0.50ppm)-空気 (1 気圧)を光照射したときの反応物及び生成物濃度の時間変化を示したものである。PAN 以外の生成物は反応の初期からその生成が観測される。図 5 は図 4 で示した各反応生成物の濃度を図 3 に示したトルエンの減少量に対してプロットし直したものである。ホルムアルデヒド及び無水マレイン酸は見かけ上トルエンの減少に対して直線的に増加しているのに対して、グリオキザール、メチルグリオキザール及びベンズアルデヒドは上方に凸の生成曲線を示し、二次反応によりこれら生成物自身が消費されていっていることを示している。これに対して、図には示されていないが、ギ酸、PAN は下に凸の生成曲線を示し二次反応生成物であることがわかった。それ以外の生成物について、図 5 に示した



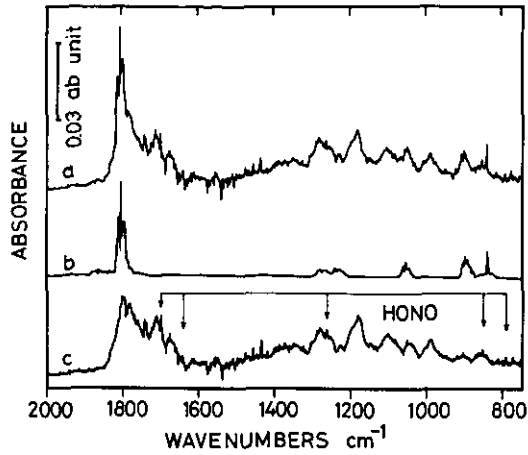


図 2 800-2000 $\text{cm}^{-1}$ 領域における反応生成物の赤外吸収スペクトル  
 a: 図 1 f と同じ試料, b: 無水マレイン酸標準スペクトル, c: a-b 差スペクトル。  
 Fig. 2 IR absorption spectrum of the products in the frequency region of 800-2000 $\text{cm}^{-1}$ .

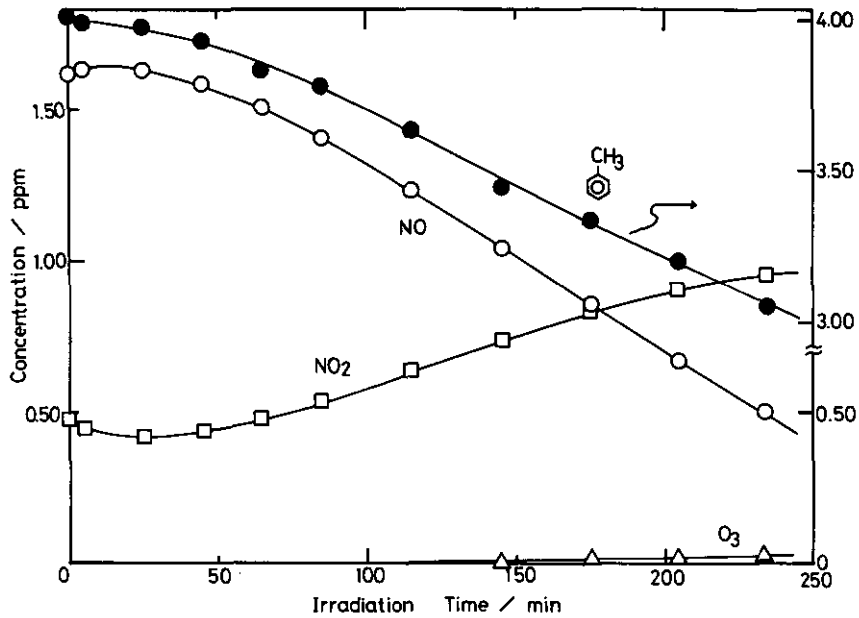


図 3 トルエン, NO, NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> の濃度を光照射時間に対してプロットしたもの  
 初期濃度: トルエン=4.01ppm, NO=1.50ppm, NO<sub>2</sub>=0.50ppm, 空気=1 気圧  
 Fig. 3 Concentrations of toluene, NO, NO<sub>2</sub>, and O<sub>3</sub> are plotted against the irradiation time

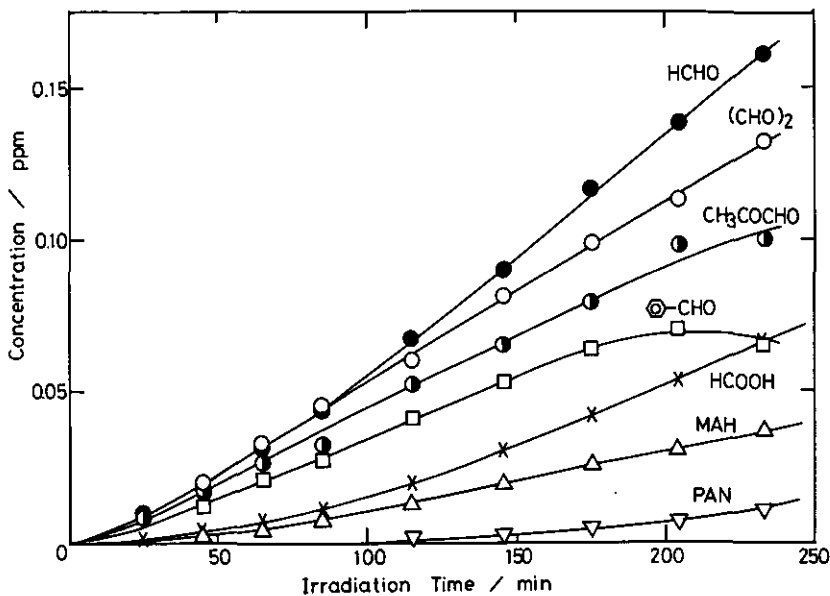


図 4 反応生成物濃度の照射時間に対する変化の様子  
 実験条件は図3に同じ。MAH：無水マレイン酸。PAN：パーオキシアセチルナ  
 イトレート。

Fig. 4 Dependence of the absolute concentrations of the reaction products on irradiation time

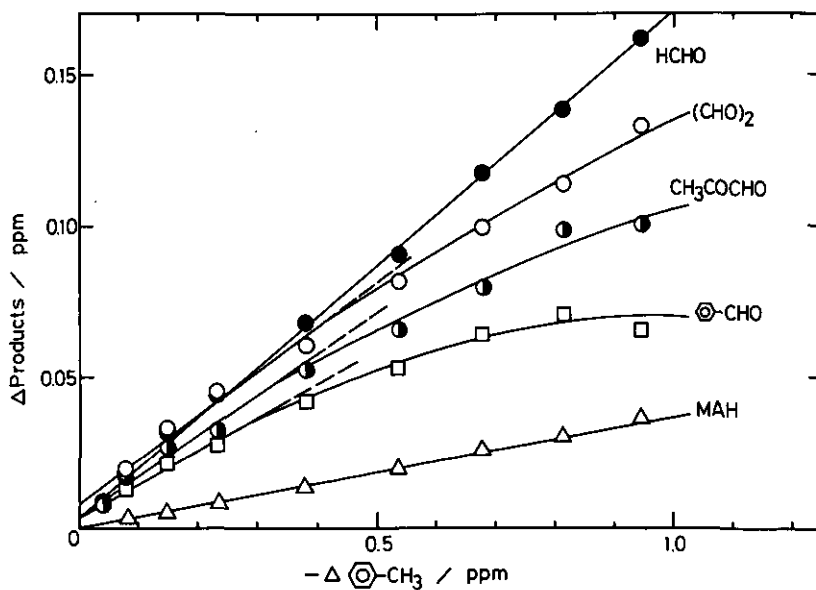


図 5 図3, 4の実験におけるトルエン減少量に対する反応生成物濃度のプロット

Fig. 5 Concentrations of products vs. toluene consumed for the same experiment as Figs. 3 and 4

ように生成曲線のうち反応初期(トルエンの減少量が初期濃度の約10%以下のところ)の部分を通直線近似してその傾きから収率を求めた。傾きは、最初の4データポイントについて最小二乗法により計算した。表2に、このようにして求めた収率を他の実験条件下での値と併せて記した。

表2に示した結果から以下のことがわかる。第1にグリオキザール、メチルグリオキザールの生成比率がほぼ1:1で一定であること。第2に、環開裂反応反応生成物(グリオキザール、メチルグリオキザール、無水マレイン酸)の占める割合が高いこと。これに対して側鎖のメチル基が酸化されてできるベンズアルデヒドの収率が11%程度であること。第4にグリオキザール、メチルグリオキザールの収率がNO<sub>2</sub>初期濃度の増加に対して減少する傾向がみられるものの、生成物全体ではその収率が本実験条件下ではほぼ一定であることが挙げられる。これら三つのRunの平均の値を最後の列に示した。後にみるように環開裂反応の過程で一つの $\alpha$ -ジカルボニル化合物(RC(O)-C(O)R', R, R'=H又はCH<sub>3</sub>:ここではグリオキザール類)が生成するとすれば、グリオキザールとメチルグリオキザールの合計収率から、トルエン光酸化過程全体における環開裂反応の占める割合が29%程度と見積もることができる。

### ベンゼン光酸化反応生成物

ベンゼンの光酸化反応生成物として、これまでにフェノール、ニトロベンゼン<sup>9,11)</sup>及びグリオキザール<sup>12)</sup>の生成が報告されていたが、これらに加えて、本研究では新たにホルムアルデヒド、ギ酸、

表 2 異なる実験条件下におけるトルエン-窒素酸化物-空気系光酸化反応の一次生成物の収率

Table 2 Yields of the primary products in the photooxidation of the toluene-NO<sub>x</sub>-air system under three different experimental conditions

Run No.	1	2	3	Average <sup>c)</sup>
Initial Concentration (ppm in 1 atm. air)				
Toluene	4.00	4.01	4.00	
NO	0.17	1.50	0.51	
NO <sub>2</sub>	0.50	0.50	1.51	
Yield of Product <sup>a)</sup>				
HCHO	0.15	0.17	0.16	0.16 ± 0.01
(CHO) <sub>2</sub>	0.20	0.15	0.11	0.15 ± 0.04
CH <sub>3</sub> COCHO	0.18	0.14	0.11	0.14 ± 0.04
MAH <sup>b)</sup>	0.044	0.039	0.037	0.040 ± 0.004
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CHO	0.12	0.11	0.10	0.11 ± 0.01

a) Values were calculated by the least-square fit of four initial points of each run as shown in Fig. 5.

b) MAH : maleic anhydride.

c) The indicated errors are one standard deviation of three runs.

無水マレイン酸が生成物として検出された。

OH + ベンゼンの反応速度定数は OH + トルエンのそれに比べて約1/5と小さいことから、本研究では、ベンゼン初期濃度を高くして反応を行い、生成物の分析を行った。図6にベンゼン (42.7ppm) -NO<sub>2</sub> (1.5ppm) -空気 (1 気圧) の光酸化反応における生成物濃度を照射時間に対してプロットしたものを示す。図から明らかなように、ベンゼンの光酸化反応では芳香族生成物(フェノール、ニトロベンゼン) が主生成物となっている。この実験では、ベンゼン減少量が初期濃度に対して極めて小さいために減少量を正確に求めることができず、トルエンの光酸化で図5に示したのと同様の方法で各生成物の収率を求めることはできなかった。しかし、ベンゼンの光酸化反応で得られる芳香族生成物がフェノールとニトロベンゼンであり、環開裂反応で生ずる生成物がグリオキサール(無水マレイン酸はベンゼンがC<sub>2</sub>+C<sub>4</sub>に環開裂したときのグリオキサールの対生成物から生ずると考えられる一次節参照)であると仮定すると、図6からベンゼン光酸化反応における芳香族化合物生成過程と環開裂過程の比率が計算される。得られた値は芳香族化合物生成過程: 80~85%, 環開裂過程: 15~20%となった。

### 反応機構

上で述べたトルエンの反応生成物に対して、その生成機構を考察した。ベンゼンについては側鎖

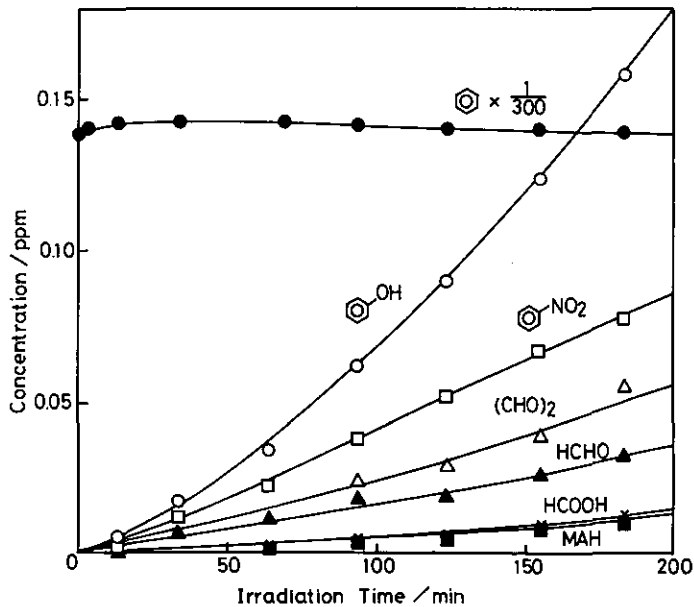


図 6 ベンゼン及び反応生成物の光照射時間に対するプロット

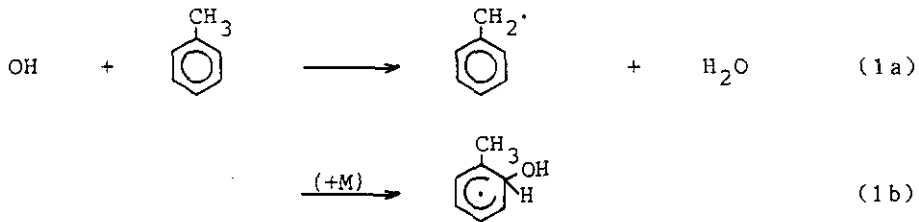
初期濃度: ベンゼン=42.65ppm, NO<sub>2</sub>=1.50ppm, 空気=1 気圧。

Fig. 6 Concentrations of benzene and reaction products are plotted against the irradiation time

の反応が無いことを除いて、トルエンと同様の反応で進むと考えられる。

窒素酸化物-空気系における炭化水素の光酸化反応は、OH ラジカル及び酸素原子 O(<sup>3</sup>P) との反応で開始すると考えられる。OH ラジカルは、NO、NO<sub>2</sub>及び H<sub>2</sub>O との均一系反応<sup>22)</sup>及び不均一系反応<sup>23)</sup>によって生成する亜硝酸(HONO)の光分解で生成する<sup>24)</sup>ことが知られている。さらに、OH ラジカルは HO<sub>2</sub>+NO を含むラジカル連鎖<sup>25)</sup>により、炭化水素酸化過程を通じて再生する。一方 NO<sub>2</sub> が大量に存在する場合、NO<sub>2</sub> 光分解により生成する O(<sup>3</sup>P) の反応が重要になってくることが考えられる<sup>10)</sup>。本実験での NO<sub>2</sub> の光分解速度は 0.22min<sup>-1</sup>であり、生成した O(<sup>3</sup>P) は空気 1 気圧下において 7.4×10<sup>4</sup>s<sup>-1</sup><sup>26)</sup> の速度で O<sub>2</sub> と反応して O<sub>3</sub> を与える。定常状態近似を用いることにより、O(<sup>3</sup>P) の定常濃度を見積もることができ、その値は、本研究の実験条件の範囲で最大 2.5×10<sup>6</sup> molecule·cm<sup>-3</sup> ([NO<sub>2</sub>] = 2 ppm) と計算される。これに対して、OH ラジカルの濃度は (1~5)×10<sup>6</sup> molecule·cm<sup>-3</sup> という値が本研究と同様のスモッグチャンバー実験に対して見積もられている<sup>23b)</sup>。一方、1 気圧、室温下でのトルエンと OH との反応速度定数は約 6×10<sup>-12</sup> molecule<sup>-1</sup>·cm<sup>3</sup>·s<sup>-1</sup><sup>5)</sup> であり、O(<sup>3</sup>P) との速度定数<sup>27)</sup>の約 100 倍であることから、トルエン光酸化反応に及ぼす O(<sup>3</sup>P) の反応の寄与は本研究に関しては無視することができる。

トルエンと OH ラジカルの反応は、次に示すように側鎖からの水素の引き抜き(反応 1 a)及び、芳香環への付加(反応 1 b)で進行する経路が考えられる。



速度定数の測定<sup>5a,d,f)</sup>及び反応生成物の分析<sup>11,28,29)</sup>両方の結果から、室温・全圧が数 Torr~1 気圧という実験条件下では、OH ラジカルの芳香環への親電子的付加反応(1 b)が主反応経路であることが報告されている。

反応(1 a)で生成したベンジルラジカルは、O<sub>2</sub>、NO の存在下で反応(2)で示した経路により、主としてベンズアルデヒドを生成する<sup>9-11,29)</sup>。

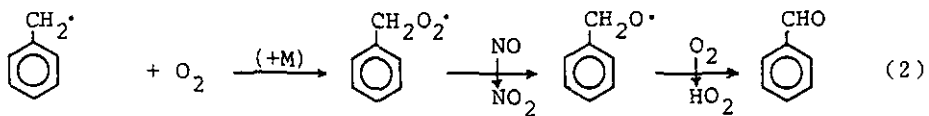
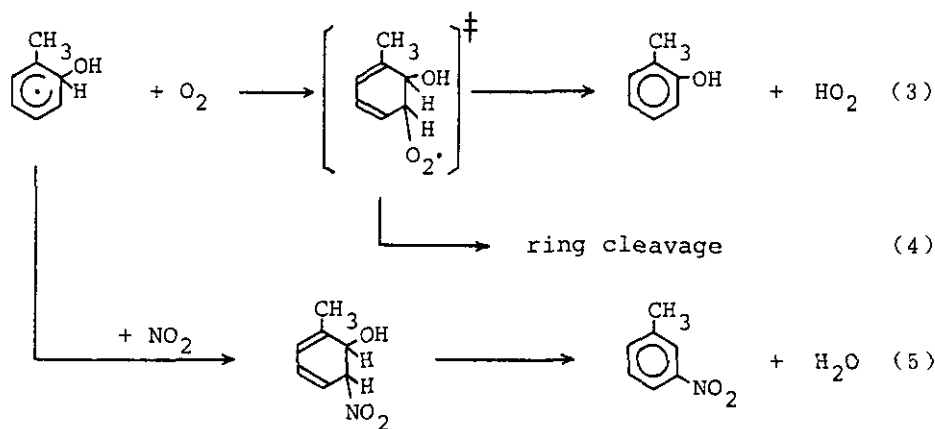


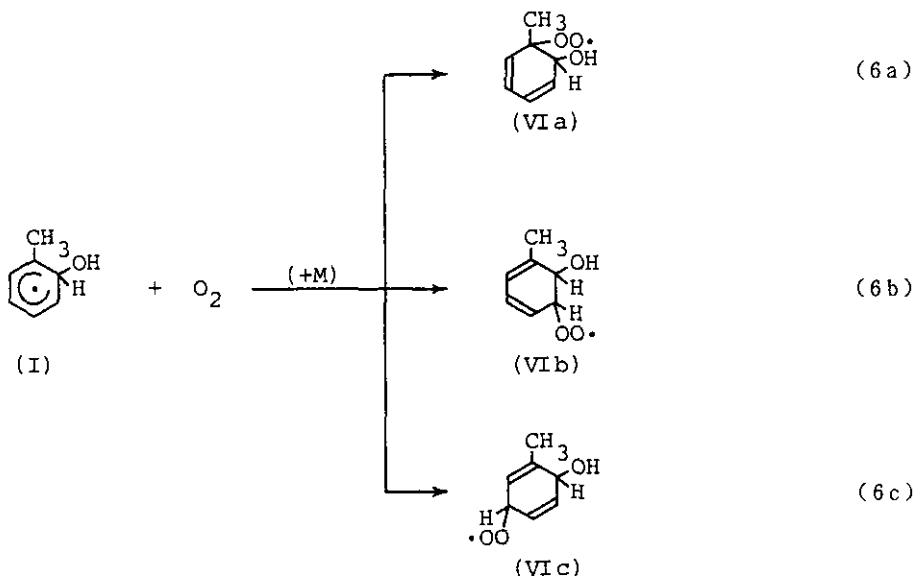
表2に示したように本研究で得られたベンズアルデヒドのトルエン減少量に対する収率は11%であった。この値は、Atkinsonら<sup>29)</sup>によって報告された値 $7.3 \pm 2.2\%$ よりも大きい。一方、ベンジルラジカルから生成したと考えられる他の生成物としてこれまでベンジルナイトレート<sup>9,10)</sup>及びベンジルアルコール<sup>8)</sup>の検出が報告されているが、これらのベンズアルデヒドに対する相対的収率は各々約 $10^{9,10)}$ 及び $4\%^{8)}$ と極めて小さいことから、ベンズアルデヒドの収率は、トルエン+OHの全反応に対する側鎖からの水素引き抜き反応の比率、 $k_{1a}/(k_{1a}+k_{1b})$ 、に近い値を持つと考えてよい。このようにして本実験結果から求められた $k_{1a}/(k_{1a}+k_{1b}) \approx 0.11$ という値は下限値であることを考慮するとPerryら<sup>(0.16)<sup>5d)</sup></sup>及びKenleyら<sup>(0.15)<sup>11)</sup></sup>によって報告された値と良い一致を示す。この値に関してはTullyら<sup>5f)</sup>による値 $0.04_{-0.02}^{+0.6}$ も報告されている。

反応(1b)で生成するOH-トルエン付加体から芳香族生成物であるクレゾール、*m*-ニトロトルエンが生ずる。クレゾール異性体のうち、*o*-クレゾールが優先的に生成する<sup>9-11)</sup>ことから、OHのトルエンへの付加はオルト位に対して優先的に起こっているものと考えられる。芳香族生成物の相対収率及び生成機構の詳細についてはすでにいくつかの報告がなされており<sup>9-11,29-30)</sup>、下に示した反応(3)、(5)を経て*o*-クレゾール、*m*-ニトロトルエンが生成すると考えられている。

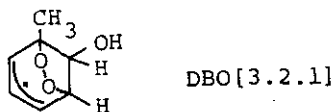


環開裂反応生成物として、本研究ではグリオキサール、メチルグリオキサール、無水マイレン酸の分析をすることができた。これらの収率が本研究で定量することのできた他の生成物の収率に比較して大きいことから、トルエン光酸化反応全体に占める環開裂反応の重要性を示唆している。最近、O'Brienら<sup>31)</sup>のグループは反応容器壁面付着物の溶媒抽出+MS/MSによる分析により、またShepsonら<sup>32)</sup>は気相混合物の低温(90K)濃縮+GC/MSを主な手段とした分析によりトルエン光酸化反応における環開裂反応生成物の研究結果を報告した。彼らはグリオキサール類のほか、C<sub>3</sub>~C<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>基を除く)にわたる環開裂生成物の検出を報告しているが、Shepsonら<sup>32)</sup>の定量分析の結果は中でもC<sub>4</sub>成分が圧倒的に多いことを示している。本研究結果と併せ考えると、環開裂は主にC<sub>2</sub>+C<sub>4</sub>成分への分解で進行していることを示唆している。

Atkinson ら<sup>30)</sup>は、反応(1b)で生成するOH-トルエン付加体が環開裂反応の前駆体であることを示唆した。この付加体は大気中でO<sub>2</sub>と反応して、(6)に示すようにOH-トルエン-O<sub>2</sub>付加体(VIa~c)を形成する。

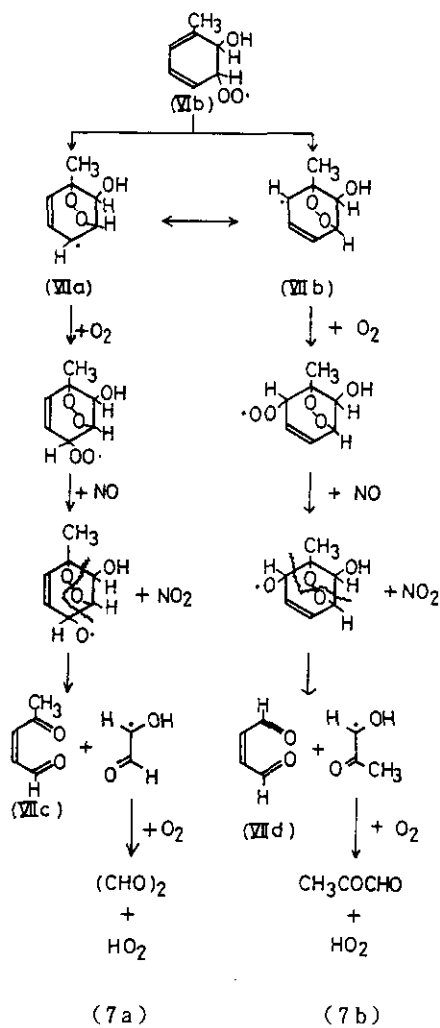


VIa~cの三種類の付加体の中でVIcは二重結合が共役していないために熱力学的に不利だと考えられる。環開裂の反応の機構として2種類のものが考えられる。一つは、Atkinson ら<sup>30)</sup>によって提唱されたもので、VIa又はVIbからビシクロ環化過程を経て進行する型のものである。例えばVIbのビシクロ[3.2.1]環化によりアリルラジカル、6,7-ジオキサビシクロ[3.2.1]オクタン化合物(以下DBO[3.2.1]と略す)、を得る。

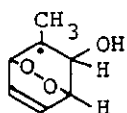


グリオキザール及びメチルグリオキザールはDBO[3.2.1]からScheme Iに示した反応により生成する(Scheme Iでは、アリル型ラジカル、DBO[3.2.1]、をその共鳴構造表記を用いて、VIIa→VIIbのように示してある)。この反応機構によればグリオキザール及びメチルグリオキザールは各々反応(7a)及び(7b)により別々に生成する。OH-トルエン-O<sub>2</sub>付加体として考えられたもう一つの化合物VIaについても、ビシクロ[3.2.1]環化反応は、VIbで得られたものと同じアリルラジカルDBO[3.2.1]を与える。したがって、ビシクロ[3.2.1]環化型環開裂反応の機構では、グリオキザールとメチルグリオキザールの生成比は反応(7a)と(7b)の比で決まる。すなわちDBO[3.2.1]の異なるラジカル点(Scheme Iでは共鳴構造VIIa及びVIIbで示されたラジカル種)

Scheme I



に対する  $O_2$  付加の確率の相対比で決まる。一方, Atkinson らの考えているもう一つの環化過程, ビシクロ[2.2.2]環化型環開裂反応では, 例えば化合物 VIb から下に示す型の 2, 3-ジオキサビシクロ[2.2.2]オクタン化合物



DBO[2.2.2]



を与え、以下は Scheme I の DBO[3.2.1] でみたと同様の  $O_2$  付加, NO による環元, オキシラジカルからの環開裂を経て, VII d とメチルグリオキザールを与える<sup>29,30)</sup>。また OH-トルエン付加体 VI a から出発するとグリオキザールが生成する。このスキームに従えば, グリオキザール及びメチルグリオキザールは各々化合物 VI a 及び VI b から排他的に生成し, その生成比は反応(6)における化合物 VI a と VI b の生成比で決まる。ビシクロ[2.2.2]環化反応で生成するラジカル中間体, DBO[2.2.2] は 6 員環 + 6 員環によるビシクロ体であるため, 7 員環 + 5 員環から成る DBO[3.2.1] に比べて環の歪みエネルギーが小さいと考えられることから, この点では熱力学的に安定だと考えられる。しかし DBO[3.2.1] では不対電子と二重結合が共役しており, それらが共役していない DBO[2.2.2] に比べてその共役による安定化の分だけ環ひずみによる熱力学的不安定性を緩和している。したがって, 今のところ DBO[3.2.1] と DBO[2.2.2] のどちらが熱力学的に有利であるかは明白ではない。

もう一つの環開裂反応機構は, Scheme II に示した型の反応である。このスキームに示したように化合物 VI b からはグリオキザールを得るが, VI a を出発物質とするとメチルグリオキザールが生成する。したがって, この機構ではグリオキザールとメチルグリオキザールの生成比は反応(6)における VI b と VI a の生成比で決まる。

Scheme II

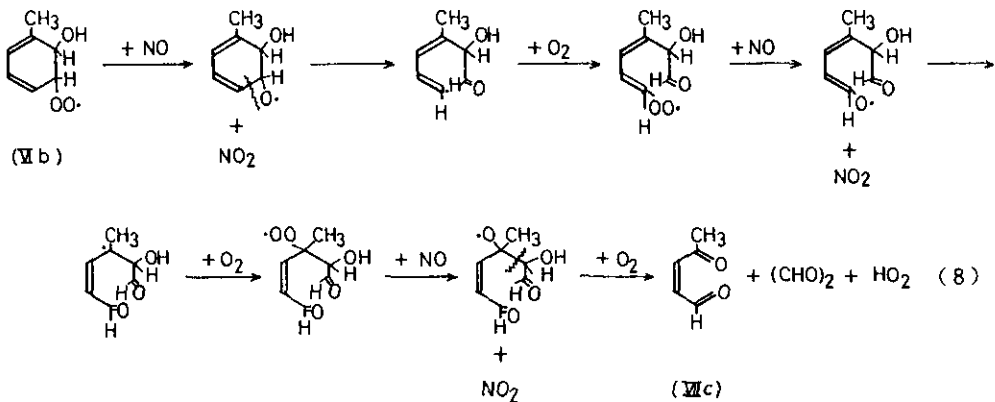
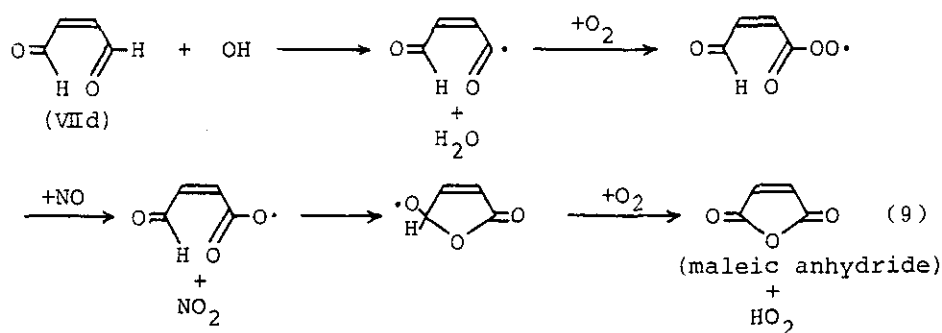


表 2 で示したように, 本研究で実験的に得られたグリオキザールとメチルグリオキザールの生成比はほぼ 1 : 1 である。最近二つのグループによりトルエン光酸化におけるこれら生成物の収率が報告された。Shepson ら<sup>32)</sup>によって報告されたグリオキザール及びメチルグリオキザールの収率は各々 8.0 及び 7.5%, Tuazon ら<sup>15)</sup>によって報告された値は各々 11.1 ± 1.3 及び 14.6 ± 1.4% であった。Shepson らの求めた収率は本研究結果及び Tuazon らの値に比べて少し小さい値であるが, 三つの実験ともその相対生成比はほぼ 1 : 1 と良い一致を示している。トルエン光酸化反応におけるグリオキザール : メチルグリオキザール = 1 : 1 という相対生成比は Scheme I, II いずれの反応

機構によっても説明される。ビスクロ[3.2.1]環化反応を経て環開裂を起こす機構(Scheme I)では、共鳴構造Ⅶa, ⅦbへのO<sub>2</sub>の付加が等確率で起こるならば、相対生成比は1:1となる。一方Scheme IIでは反応(6)によって生成するⅦb, Ⅶaの生成比が1:1とすればグリオキザール類の相対生成比1:1を説明することができる。この二つの反応機構に対して、後に述べるようにNO→NO<sub>2</sub>転換率の実験結果が環化型環開裂反応の機構の方を支持することから、グリオキザール類の生成機構としてScheme Iが妥当であると結論することができた。

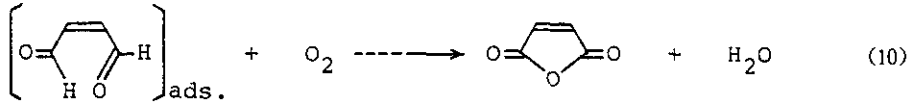
先に述べたように芳香環開裂が主にC<sub>2</sub>+C<sub>4</sub>で進行するとすれば、C<sub>2</sub>断片であるグリオキザール、メチルグリオキザールの相手として不飽和γ-ジカルボニル化合物、シス-4-オキソ-2-ペンテナール(Scheme I, 化合物Ⅶc)及びシス-2-ブテンジアル(化合物Ⅶd)が各々C<sub>4</sub>化合物として生成すると期待される。事実、Shepsonら<sup>32)</sup>はGC/MSを使ってトルエン光酸化反応生成物中に4-オキソ-2-ペンテナール及び2-ブテンジアルを検出することができた。ただし、報告されたこれら化合物の収率はグリオキザール類の1/8あるいはそれ以下であった。これらはアルデヒド化合物であることからアルデヒド基のC-Hの赤外特性吸収を2850~2700cm<sup>-1</sup>に持つことが期待されるが、図1fで見られたように、この領域に顕著な吸収がみられず気相には本研究の検出限界以下の量しか残っていないものと考えられる。このことはⅦc, Ⅶdが壁への吸着あるいは光分解及びOHラジカルとの反応により速やかに気相から除去されることを示唆している。

本研究では、C<sub>4</sub>化合物として無水マレイン酸(MAH)の生成が観測され、図5にみられるようにトルエン減少に対して直線的に増加し、見かけ上一次生成物のようにみえる。しかし、種々の反応機構が検討されたが、一次生成物としてMAHを生成する妥当な機構は見いだされなかった。一方、MAHは一次生成物としてその生成が考えられたシス-2-ブテンジアル(化合物Ⅶd)から、次の反応によって生成する過程が考えられる。



大気中における反応(9)の律速段階は、第1のステップ、Ⅶd+OH、と考えられる。この反応の速度定数は、Ⅶdのアルデヒド水素のOHに対する反応性が他のアルデヒド類と同程度であると仮定して、 $3 \times 10^{-11} \text{ molecule}^{-1} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ と見積もることができる<sup>30)</sup>。これに対してⅦdの生成における律速段階、トルエン+OHの大気圧下での速度定数は約 $6 \times 10^{-12} \text{ molecule}^{-1} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ であり、反

応(9)の方が約5倍速いものの、反応(9)だけではMAHの直線的な増加は説明できない。MAH生成のもう一つ別の過程としてチャンバー壁面でのⅥdの酸化反応(反応(10))が考えられる。



最近の Dumdei と O'Brien<sup>31a)</sup> の報告によれば、彼らはトルエン光酸化反応を行った後反応容器の壁面に付着した生成物を有機溶媒で洗い出し、その中に2-ブテンジアル、4-オキシ-2-ペンテナール等の環開裂反応生成物を見いだした。したがってMAH生成に対しては反応(9)だけでなく反応(10)の寄与も十分考えられるが詳細については現在のところ不明である。化合物Ⅵcについても反応(9)、(10)と同様にしてメチルラジカル放出を伴ってMAHの生成することが考えられるが、次節のキシレンの実験結果にみるようにⅥcからのMAHの生成は認められなかった。MAHの収率はグリオキザールあるいはメチルグリオキザールの約1/5(表2)であること、生成物の赤外吸収スペクトルにまだ未同定のカルボニル吸収が多くみられることから、環開裂により生成するこれら不飽和γ-ジカルボニル化合物は二次反応によりさらに酸化されたり、あるいはチャンバー壁面の吸着等で除去されているものと考えられる。

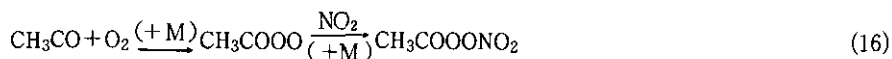
もし、メチルラジカルが化合物Ⅵcあるいは他の反応中間体から放出されるとすると、次式に従ってホルムアルデヒドが生成する。



二次生成物であるギ酸の生成機構については、ホルムアルデヒドの光酸化による生成<sup>33)</sup>あるいは不飽和γ-ジカルボニル化合物の酸化による生成等が考えられる。また次式に示すようにグリオキザール、メチルグリオキザールとOHラジカルの反応による生成過程も考えられる。



Plumら<sup>34)</sup>はOHとグリオキザール、メチルグリオキザールの反応が速いことを報告している。トルエン光酸化反応におけるPANの生成については反応(15)あるいはメチルグリオキザール光分解により生成するアセチルラジカル(CH<sub>3</sub>CO)の反応<sup>13)</sup>



が主な生成経路であろう。

トルエン光酸化反応における芳香族生成物についてはこれまで幾つかの研究があり<sup>9-11, 29)</sup>主生成物はベンズアルデヒドと $o$ -クレゾールであることがわかっている。ここで得られたベンズアルデヒドの収率(0.11)はこれまでに報告されていた値(0.073<sup>29)</sup>, 0.12<sup>30)</sup>, 0.15<sup>11b)</sup>—後者二つのデータは各々の文献をもとに計算しなおしたのも—文献29による)と妥当な範囲で一致している。一方、報告された $o$ -クレゾールの収率は0.13~0.68 (0.131<sup>29)</sup>, ~0.21<sup>30)</sup>, 0.68<sup>11b)</sup>—後者二つは文献29により計算されたもの)とバラツキがみられる。本研究では、ベンズアルデヒドの他に芳香族生成物を同定することができなかったが、先に求めた環開裂反応の全トルエン消費に対する比率(0.29)から、芳香族化合物生成が0.71, そのうち側鎖の酸化によるベンズアルデヒド生成が0.11,  $o$ -クレゾールを主とする他の芳香族化合物生成が0.60と計算される。

環開裂反応の機構として、Scheme I と II の2通りの可能性を考えてきたが、これらの反応機構を検討する目的で、 $\text{NO} \rightarrow \text{NO}_2$  転換率を求める実験を行った。反応の過程で生成する  $\text{HO}_2$  1分子当たり  $\text{HO}_2 + \text{NO} \rightarrow \text{OH} + \text{NO}_2$  の反応により  $\text{NO}$  を1分子  $\text{NO}_2$  に酸化することも含めると、Scheme I ではトルエン1分子の反応当たり2分子の  $\text{NO}$  が、Scheme II では4分子の  $\text{NO}$  が  $\text{NO}_2$  に酸化される。炭化水素光酸化反応に伴う  $\text{NO} \rightarrow \text{NO}_2$  転換比率はその炭化水素のオキシダント生成能を決める重要な要素であることから、これまでに幾つかの報告がある。トルエンの光酸化反応に対して求められた値は実験条件に依存して2.3<sup>35)</sup>と1.2<sup>36)</sup>の二つの値がある。そこで本光化学チャンバーを用いて、この値を決める実験を別に行った。トルエン(4ppm)- $\text{NO}$ (2ppm)-空気(1気圧)の系で光照射を行い、反応初期(光照射時間<100分)におけるトルエン減少量に対する  $\text{NO}$  減少量の比を求めた。得られた値は3回の実験で1.5, 1.5, 1.6, 平均値として1.5という値を得た。この実験的に得られる値は次の三つのタイプのトルエン光酸化反応による  $\text{NO} \rightarrow \text{NO}_2$  過程によって成り立っている。すなわち(1)側鎖の水素引き抜きによって生ずるベンジルラジカルからベンズアルデヒド生成反応(反応式(2), この場合  $\text{NO} \rightarrow \text{NO}_2$  転換率=2): (2)  $\text{OH}$ -トルエン付加体からのクレゾール生成(反応式(3), 転換率=1): (3)  $\text{OH}$ -トルエン付加体からの環開裂反応(Scheme I 又は II, 転換率= $n$ )。 (1)~(3)の各過程のトルエン光酸化反応全体に占める割合を上で見たとように0.11, 0.60, 0.29とすると、 $n=2.4\sim 2.6$ を得る\*。環開裂反応において生成する不飽和  $\gamma$ -ジカルボニル化合物は、

\*次式により  $n=2.34$  が求まる。

$$2 \times 0.11 + 1 \times 0.06 + n \times 0.29 = 1.5$$

ただし、この値は下限値である。 $\text{NO}_2$  の存在によりベンジルラジカルからベンズアルデヒドに代わって一部ベンズアルデヒドが、また  $\text{OH}$ -トルエン付加体からはクレゾールに代わって一部  $m$ -トロトルエン(反応式(4))が生成する。したがって、過程(1), (2)の実効的な転換率としては各々2, 1より少し小さくなる。ただし、ベンズアルデヒドが及  $m$ -ニトロトルエンの収率は高  $\text{NO}_2$  濃度下においても各々ベンズアルデヒド及びクレゾールの収率の10%を起すことはない<sup>10)</sup>。よって、 $n$ の値として、2.4~2.6の範囲が見積もられる。

NO→NO<sub>2</sub> 転換率を決めた光照射時間(<100分)中に一部は無水マレイン酸に、また一部は他の反応により分解(メチルラジカルの放出を含む)していると考えられることから、環開裂過程では一次反応によるNO→NO<sub>2</sub> 転換に加えて二次反応による分も加わってくる(メチルラジカルからホルムアルデヒドの生成, 反応式(11~13))。したがって, Scheme I 及び II で予想された  $n=2$  及び  $4$  の値は実際の測定では各々の値より大きくなるものと思われる。以上のことを考えると実測された  $n=2.4\sim 2.6$  を満足するためには, トルエン光酸化反応における環開裂反応の機構として, Scheme I で示された反応が妥当であると結論される。

### 3. 2 キシレン

#### キシレン光酸化反応生成物

キシレンの3種類の異性体(*o*-, *m*-, *p*-キシレン)各々について, キシレン(4 ppm)-NO(1.5ppm)-NO<sub>2</sub>(0.5ppm)-空気(1気圧)で光酸化反応を行い, その反応生成物を分析した。三つの異性体全体に共通する反応生成物としてホルムアルデヒド, ギ酸, PAN, グリオキサール, メチルグリオキサール, 及び各異性体に対応するトルアルデヒド(*o*-, *m*-, *p*-)の生成がみられた。このほかに*o*-キシレンの光酸化ではピアセチル, 無水マレイン酸(MAH)の生成も観測された。図7に三つのキシレン異性体各々につき, キシレン約20%反応後の反応生成物(キシレン, NO, NO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>Oによる赤外吸収は既に引いてある)の赤外吸収スペクトル及び残余スペクトル(さらに上で述べた各生成物の赤外吸収を全部引いた残り)を示した。

キシレン及び反応生成物の光照射時間に対する変化の様子を図8に*o*-キシレンの場合を例として示した。光照射開始後200分で既に約35%の*o*-キシレンが反応しており, トルエン(200分で約20%の反応率)に比べて反応の速いことがわかる。*m*-キシレンではさらに反応が速く, 光照射100分で既に約30%のキシレンが酸化する。*p*-キシレンは*o*-キシレンとほぼ同様(200分で約30%)の経時変化を示す。この傾向は既に報告されている各種のアルキルベンゼンとOHラジカルの反応の速度定数<sup>5)</sup>によって説明できる。さらに図8から, PAN及びギ酸がトルエンの場合と同様に二次反応生成物であることがわかる。他の反応生成物の収率を求めるために, *o*-キシレンの減少に対して生成量をプロットし(図9), 最初の5点に対する最小二乗法で得られる直線の傾きから収率を計算した。トルアルデヒドについては, OHラジカルとの反応が速く直線からのズレが大きくなるので(図9), 最初の3点に対する最小二乗により収率を求めた。このようにして求めた各反応生成物の収率を, *m*-, *p*-キシレンの場合も併せて表3に示した。表3では各生成物の収率の平均の値(誤差は三つの平均に対する1 $\sigma$ の値)及び $\alpha$ -ジカルボニル化合物の全収率(グリオキサール+メチルグリオキサール+ピアセチル)の値を併せて示した。

キシレン光酸化反応における $\alpha$ -ジカルボニル化合物に関して, これまでGCを主な分析手段とした研究が報告されている。最も報告例の多い*o*-キシレンについてみると, Nojimaら<sup>12)</sup>によって報告されたデータから計算されるグリオキサール, メチルグリオキサール, ピアセチルの収率は各々

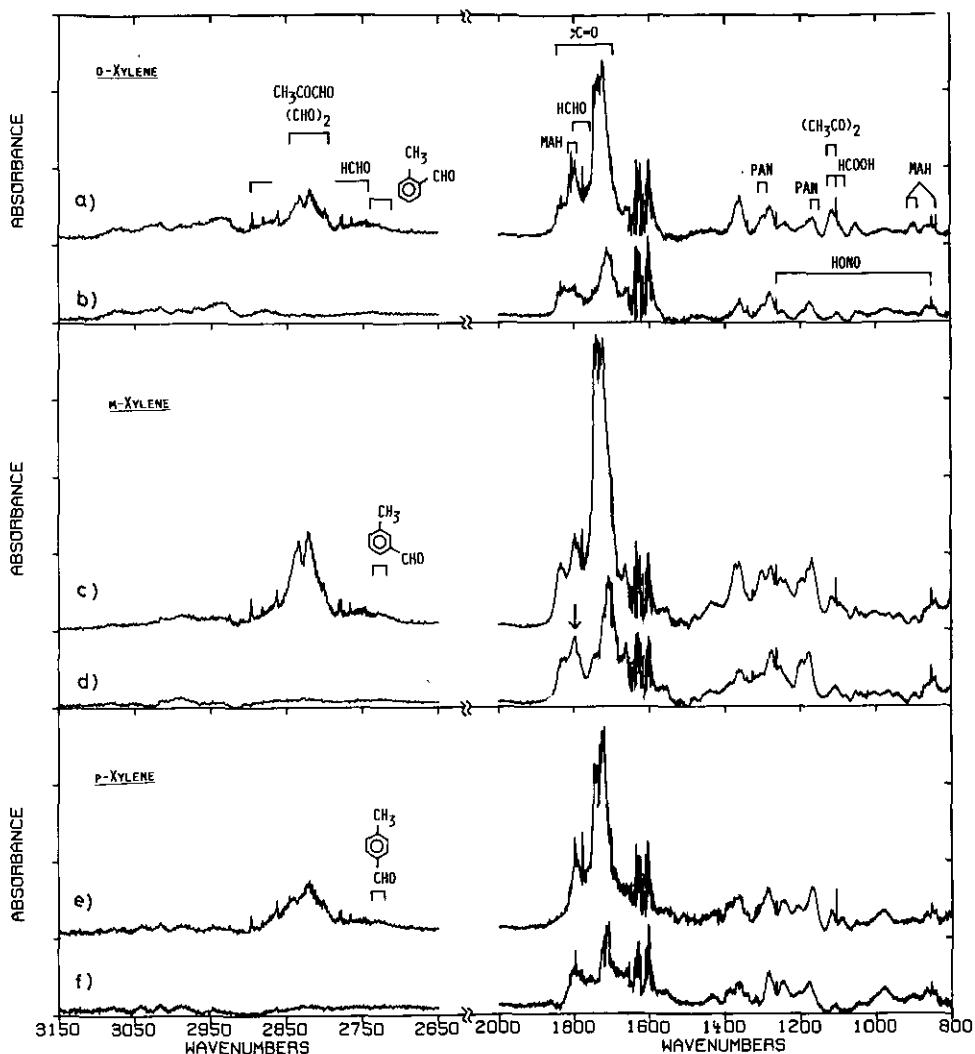


図 7 反応生成物の赤外吸収スペクトル(キシレン, NO, NO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O の寄与を引いたもの)及び同定された生成物の寄与をすべて引いた残りのスペクトル(未同定反応生成物による)

a), c), e) : キシレン(4 ppm)-NO(1.5ppm)-NO<sub>2</sub>(0.5ppm)-空気(1気圧)系光酸反応における生成物のスペクトル。初期濃度の約20%のキシレンが反応したところ。a), c), e) は各々 *o*-, *m*-, *p*-キシレンに対応。b) : 同定された生成物 (H<sub>2</sub>CO, HCOOH, (CHO)<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>COCHO, (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>, maleic anhydride, PAN, 及び *o*-トルアルデヒド) の寄与をa) から引いた残りのスペクトル。d) : 同定された生成物 (H<sub>2</sub>CO, HCOOH, (CHO)<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>COCHO, PAN, 及び *m*-トルアルデヒド) の寄与をc) から引いた残りのスペクトル。↓ : 本文参照。f) : 同定された生成物 (H<sub>2</sub>CO, HCOOH, (CHO)<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>COCHO, PAN, 及び *p*-トルアルデヒド) の寄与をe) から引いた残りのスペクトル。

Fig. 7 Product IR spectra (spectra, from which spectra of xylene, NO, NO<sub>2</sub>, and H<sub>2</sub>O were subtracted) and residual IR spectra (spectra from which spectra of products identified were subtracted).

表 3 *o*-, *m*-, *p*-キシレン-NO<sub>x</sub>-空気系光酸化反応における生成物の収率  
(Δ生成物/Δキシレン)

Table 3 Yield of products<sup>a)</sup> (Amount of Product Formed/Amount of Xylene Consumed) in the Photooxidation of *o*-, *m*-, *p*-xylene-NO<sub>x</sub>-Air System<sup>b)</sup>

Run Product	<i>o</i> -xylene				<i>m</i> -xylene				<i>p</i> -xylene			
	1	2 <sup>c)</sup>	3	Ave. <sup>d)</sup>	4	5	6	Ave. <sup>d)</sup>	7	8	9	Ave. <sup>d)</sup>
HCHO	0.18	0.13	0.22	0.18±0.04	0.14	0.17	0.19	0.17±0.02	0.19	0.16	0.16	0.17±0.02
(HCO) <sub>2</sub>	0.07	0.08	0.09	0.08±0.01	0.11	0.12	0.16	0.13±0.03	0.26	0.22	0.23	0.24±0.02
CH <sub>3</sub> COCHO	0.23	0.20	0.25	0.23±0.03	0.37	0.44	0.47	0.42±0.05	0.13	0.11	0.14	0.12±0.02
(CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub>	0.10	0.08	0.12	0.10±0.02								
maleic anhydride	0.04	0.03	0.05	0.04±0.01								
tolualdehyde	0.04	0.05	0.05	0.05±0.01	0.03	0.04	0.05	0.04±0.01	0.08	0.08	0.07	0.08±0.01
Total yield of α-dicarbonyls				0.41±0.04				0.55±0.07				0.36±0.03

- a) Values were calculated by the least-square fit of five initial points of each run except the case of tolualdehydes (least-square fit of three points).  
 b) Initial conditions of reactants were 4ppm of xylene, 1.5ppm of NO, and 0.5ppm of NO<sub>2</sub> in 1 atm (=101 kPa) air in all runs except run number 2.  
 c) Initial conditions of reactants was 8 ppm of *o*-xylene, 1.5ppm of NO, and 0.5ppm of NO<sub>2</sub> in 1 atm air.  
 d) The indicated errors are one standard deviation of three runs.

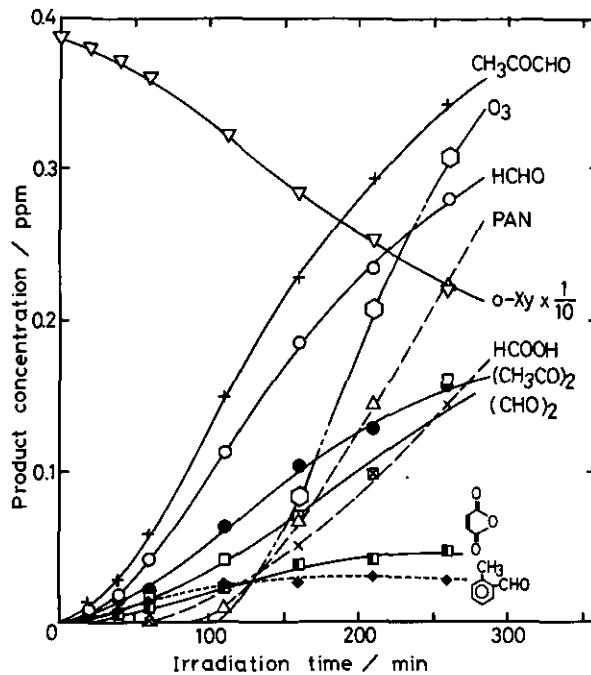


図 8 *o*-キシレン光酸化反応における各生成物濃度の照射時間に対する変化  
 Fig. 8 Concentrations of each product as functions of irradiation time in the case of *o*-xylene

0.002, 0.040, 0.012, Takagiら<sup>14)</sup>によって報告された収率は各々0.85, 0.14, 0.26, 最も最近のデータとして, Shepsonら<sup>32)</sup>によって求められた収率0.034, 0.116, 0.085がある。報告された結果の一致が極めて悪い。これらの研究ではいずれも, 光酸化反応試料ガスを低温トラップ中に導き生成物を濃縮する<sup>14)</sup>か, あるいは試料ガスを溶液中に導入しカップリング反応により  $\alpha$ -ジカルボニル化合物を固定化濃縮した後にGC分析に供する方法<sup>12, 32)</sup>を採っている。得られた結果のズレは, 主に前処理段階での副次反応・回収効率の違い等に依るものと思われる。これらのデータの中で, Shepsonらのデータ<sup>32)</sup>は本研究で求めた値(*o*-キシレンで, グリオキザール, メチルグリオキザール, ピアセチルに対して $0.08 \pm 0.04$ ,  $0.23 \pm 0.03$ ,  $0.10 \pm 0.02$ )と比較的良好一致を示している。一方Atkisonらのグループ<sup>13, 29)</sup>はElectron Capture Detection (ECD)-GCを使って*o*-キシレン光酸化中のピアセチルの収率を求め報告している。彼らの方法では試料ガスを直接GC分析にかけ, 前処理を必要としていない。これにより報告された値は初め $0.18 \pm 0.04$ と報告されていたが, 新たに実験をし直し,  $0.137 \pm 0.016$  (740Torr 全圧下)<sup>29)</sup>という値を報告している。この値は本研究で得た値と実験誤差の範囲内で良く一致している。*m*-及び*p*-キシレン光酸化反応における反応生成物の研究例は少なく, 従来Nojimaら<sup>12)</sup>による研究が報告されているのみであった。*o*-キシレンの場合同様, 彼らによって報告されたグリオキザール, メチルグリオキザールの収量は極めて小さく, 収率を計



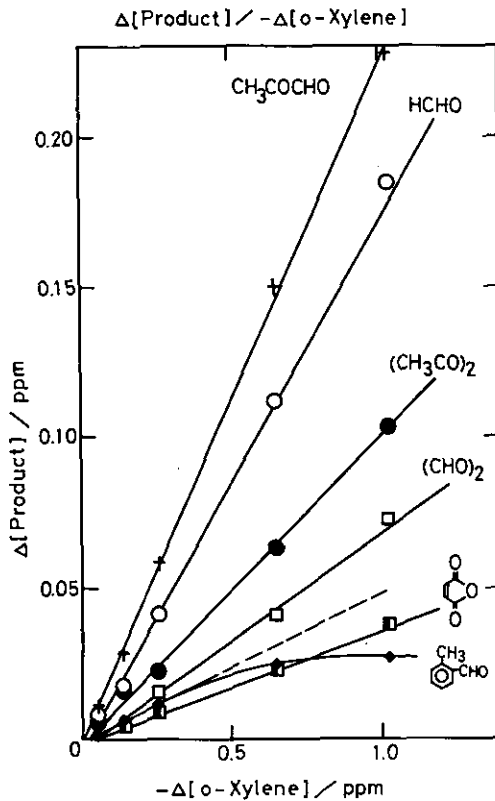
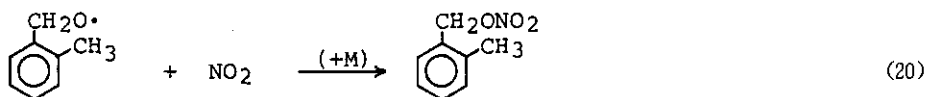
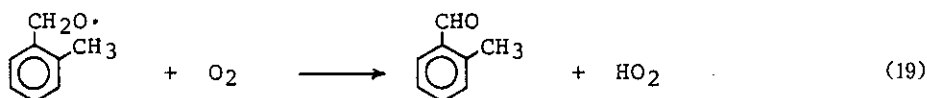
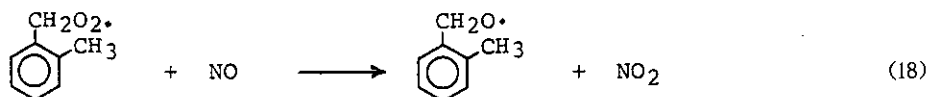
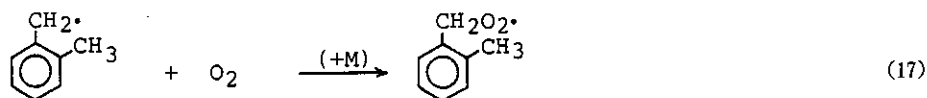
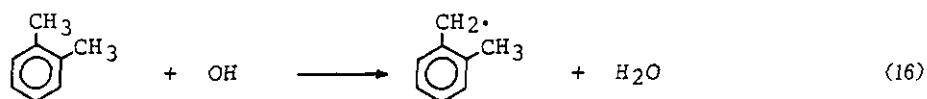


図 9 図 8 の実験における *o*-キシレン減少量に対する反応生成物濃度のプロット  
 Fig. 9 Concentrations of products are plotted against the concentration of *o*-xylene consumed for the same experiment as Fig. 8

算すると本研究で得た収率よりも 1 けた近く小さい値となる。最近 Tuazon ら<sup>15)</sup>は、可視吸収及び FT-IR を用いて *m*-、*p*-キシレン光酸化反応で生成するグリオキザール、メチルグリオキザールを直接分析し、我々の得た収率とよく一致する値を報告した。これらの事実は本研究で用いたような直接分析（前処理、サンプリング処理を必要としない分析手法）が、グリオキザール等の反応性の高い物質の分析に対して、より信頼性の高いデータを与えることを裏付けている。

芳香族生成物として本研究では、*o*-、*m*-、*p*-キシレンから、各々に対応するトルアルデヒドの生成を検出、定量することができた。これらのトルアルデヒドは、OH ラジカルによる側鎖からの水素引き抜きによって生ずるメチルベンジルラジカルから生成する。*o*-キシレンの場合、*o*-トルアルデヒドの生成は次の反応式 (16) から (19) に示したように進行する。



トルアルデヒド生成反応(19)は $\text{NO}_2$ 存在下でメチルベンジルナイトレート生成(20)と競争する。ただし反応(20)は(19)に対して約10%程度の寄与<sup>14)</sup>である。そこで、トルエンの場合に見積もったと同様に、トルアルデヒドの収率を $\text{OH} + \text{キシレン}$ の全反応に占める側鎖からの水素引き抜き反応(反応式(16))の割合を表すものとして、他の文献により報告されたその割合との比較を表4に示した。実験誤差を含めてみると、反応速度定数の温度依存から計算した値と生成物の収率から求めた値の一致はKenleyら<sup>11b)</sup>のデータを除いてかなり良い。したがって、キシレン類の光酸化反応では、側鎖に対する攻撃は全反応のうちの約5~10%程度とみなすことができる。

キシレン光酸化によるその他の芳香族生成物に関しては、Takagiら<sup>14)</sup>による $o$ -キシレンの研究が報告されている。彼らによって分析された芳香族生成物全体の収率は、側鎖の酸化によるトルアルデヒド、メチルベンジルナイトレートも含めて約17%である。

表 4  $\text{OH} + \text{キシレン}$ の全反応に占める側鎖からの水素抜き反応の割合  
Table 4 Fractions of side-chain abstraction channel in the total reaction of  $\text{OH} + \text{xylenes}$

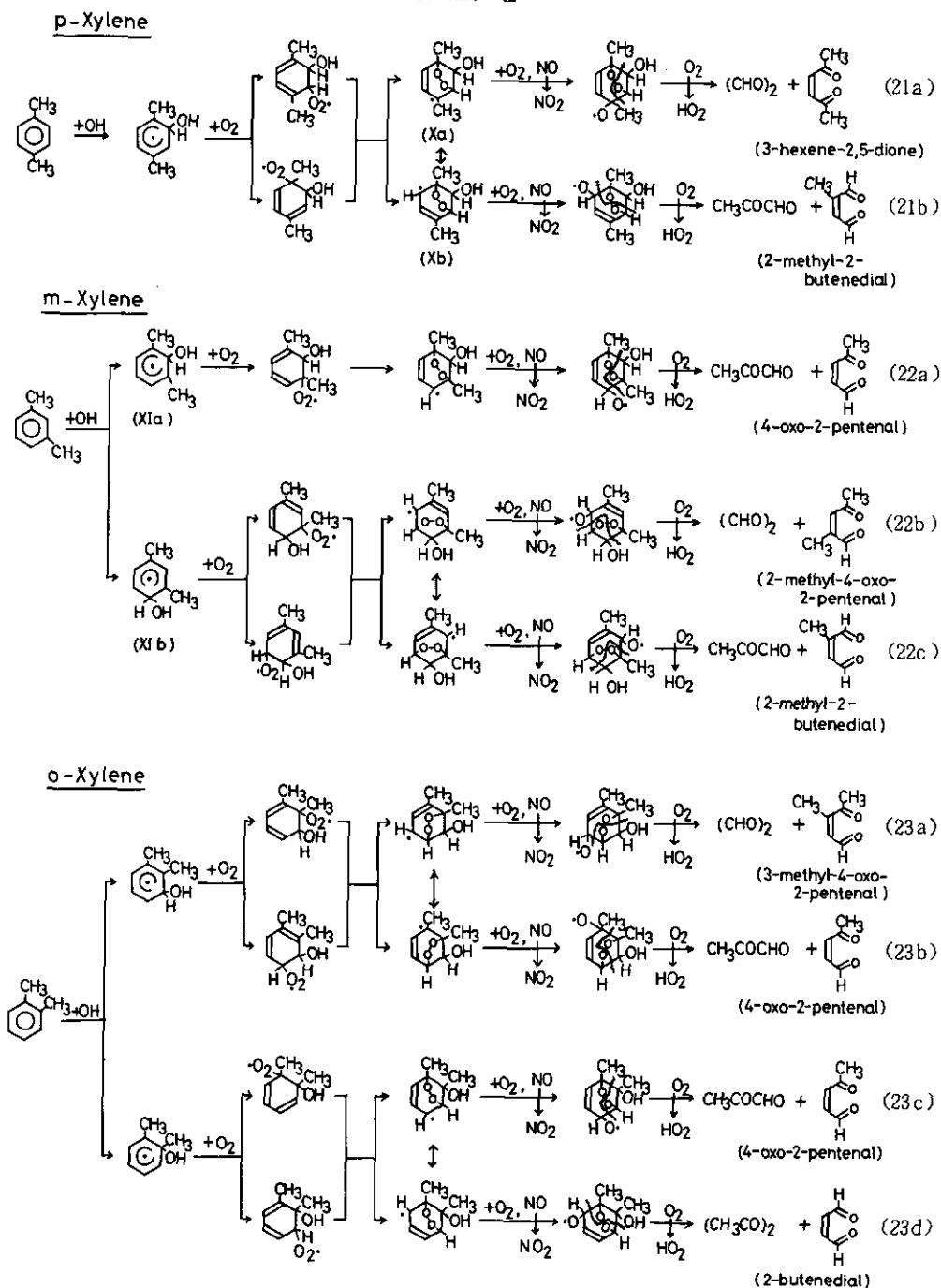
	Rerry <i>et al.</i> (Ref. 5d)	Nicovich <i>et al.</i> (Ref. 5g)	Takagi <i>et al.</i> (Ref. 14)	Kenley <i>et al.</i> (Ref. 11b)	Shepson <i>et al.</i> (Ref. 32)	This work
<i>o</i> -Xylene	0.20 <sup>+0.15</sup> -0.10	0.04	0.08-0.13		0.047	0.05±0.01
<i>m</i> -Xylene	0.04 <sup>+0.04</sup> -0.02	0.02				0.04±0.01
<i>p</i> -Xylene	0.07 <sup>+0.07</sup> -0.03	0.04		15±0.02		0.08±0.01
Method	Temperature dependence of rate constants.	Temperature dependence of rate constants.	GC analysis of tolualdehydes and nitrates.	GC analysis of products.	GC analysis of products.	FTIR analysis of tolualdehydes.

### 環開裂反応の機構

表3に示したように、 $\alpha$ -ジカルボニル化合物の収率が、キシレンによってかなり異なっている。例えば、*o*-, *m*-キシレンではメチルグリオキザールが最大収率を示すのに対して *p*-キシレンではグリオキザールの収率が最大収率となる。前節でみたトルエン光酸化における  $\alpha$ -ジカルボニル化合物の収率も含めキシレン異性体間におけるこのような  $\alpha$ -ジカルボニル化合物生成収率の違いを、一つの簡単な環開裂機構で説明できるかどうか興味を持たれるところである。もしそのような反応機構が一般則として他の芳香族炭化水素に対しても適用できることがわかれば、芳香族炭化水素を含む光化学大気汚染のモデルシミュレーションに極めて有用なものとなる。

一般則としての反応機構を考えるために、トルエンで検討した環化型環開裂反応を基にして、さらに妥当と考えられる三つの仮定を設け、反応機構全体をできるだけ単純化した。まず第1に開始反応であるOHラジカルのキシレンへの付加は、メチル置換基に対してオルト位に優先的に起きると仮定する(仮定-1)。この仮定は次の二つの実験事実に基づく、すなわち a) Grovenstein と Mosher<sup>38)</sup>によれば  $O(^3P) + \text{キシレン}$  の反応では、 $O(^3P)$  の付加はオルト位に優先的である。一方、OHラジカルは  $O(^3P)$  と同様に親電子の付加を行い、両者の反応性に良い相関のあることが知られている<sup>39)</sup>； b) トルエン光酸化反応で生成するクレゾールでは、OHのオルト位付加から生成する *o*-クレゾールが主成分である<sup>9-11)</sup>。そこで、環開裂反応に対してトルエンの場合に検討したように環化型環開裂を考えると、キシレン光酸化反応における環開裂はScheme IIIに示したようになる。このスキーム中では、OH-キシレン- $O_2$ 付加体のビシクロ[3.2.1]環化によって生成するアリルラジカル化合物、6,7-ジオキサビシクロ[3.2.1]オクタン化合物は、例えば *p*-キシレンの場合の  $Xa \leftrightarrow Xb$  のようにその共鳴構造で示してある。まず、対称性が良く最も単純な *p*-キシレンの場合から検討する。Scheme IIIでみるように、*p*-キシレンからは、グリオキザール + 3-ヘキセン-2,5-ジオンとメチルグリオキザール + 2-メチル-2-ブチンジアルが対で生成し、グリオキザール：メチルグリオキザールの生成比は反応 (21a)：(21b) の比で決まる。*p*-キシレンにおける実験的に求められたこの生成比は表3より2：1である。よって、この反応式 (21a)：(21b) の比は2：1でなければならない、すなわちアリルラジカルに対する  $O_2$  付加は、共鳴構造が第3ラジカル ( $C-\overset{\cdot}{C}-C$ , *p*-キシレンでは  $Xa$ ) 型に対しては第2ラジカル ( $C-\overset{H}{\underset{\cdot}{C}}-C$ ,  $Xb$ ) 型に対してよりも約2倍の確率で起こると考えられる。これに対して、トルエンの光酸化で得た結果、グリオキザール：メチルグリオキザール生成比=1：1及びScheme Iから、共鳴構造がともに第2ラジカル (VIIa, VIIb) である場合  $O_2$  付加は両者に対してはほぼ等しい確率で起こると考えられる。以上の考察から、つぎの仮定：環化によって生成する6,7-ジオキサビシクロ[3.2.1]オクタンアリルラジカル化合物が、第2及び第3ラジカル型共鳴構造から成るとき、第3ラジカル型共鳴構造に対する  $O_2$  付加は第2ラジカル型のそれに対する2倍の確率で起きる、それ以外の場合確率は等しい(仮定-2)が導入される。この仮定は、同じ構造で比較した場合第3ラジカルの方が第2ラジカルよりも安定であるという一般則と矛盾しない。

Scheme III









*m*-キシレンについても、環化型環開裂機構と仮定-1を基にした環開裂反応の様子を Scheme III に示してある。OH-*m*-キシレン付加体である XIa 及び XIb のうち、XIa は OH が *m*-キシレンの 2-位に付加したものである。一方 XIb は 4-及び 6-位に対する OH の付加で生成する。したがってもし OH 付加がどのオルト位に対しても等しい確率で起きるとすると XIa : XIb = 1 : 2 となる。この値と、仮定-2による反応 (22b) : (22c) = 1 : 1 という反応確率から計算されるグリオキザール、メチルグリオキザールの生成比は 1 : 2 (0.33 : 0.67) となる。これに対して実験的に得られた値は 0.23 : 0.77 であり、この値の説明するために、最後の仮定 ; もし 1-及び 3-位に同時にアルキル置換基がある場合 (例えば *m*-キシレン = 1,3-ジメチルベンゼン, 次節に出てくる 1, 2, 3-及び 1, 3, 4 (= 1, 2, 4)-トリメチルベンゼン), 2-位に対する OH ラジカル付加の確率は他のオルト位に対する確率の 2 倍である。それ以外の場合, すべてのオルト位に対する OH 付加は等確率であるとする (仮定-3), が導入される。仮定-3を導入することにより, *m*-キシレンの場合 XIa : XIb = 1 : 1 となり計算により求められるグリオキザールとメチルグリオキザールの生成比は 0.25 : 0.75 となり, 実験値に近い値となる。この仮定-3は, 次節で述べるトリメチルベンゼン類の実験結果を説明する上でも重要な要素となる。

Scheme III には, *o*-キシレンについても環開裂過程を示した。環化型環開裂機構と仮定-1~3を用いて計算される  $\alpha$ -ジカルボニル化合物の相対生成比と実験的に得られた値を表 5 に示した。*o*-キシレンの場合, 反応式 (23a) と (23b) の相対的比率は仮定-2により 1 : 2 と仮定している。表 4 でわかるように, トルエン, *m*-, *p*-キシレンのデータを説明した反応機構と仮定を使って, *o*-キシレンの  $\alpha$ -ジカルボニル化合物生成比がうまく説明された。表 5 には, 上で述べた反応機構のもとで,  $\alpha$ -ジカルボニル化合物生成に付随して生成する不飽和  $\gamma$ -ジカルボニル化合物の生成比も

表 5 実験及び計算<sup>a)</sup>から求められた  $\alpha$ -及び不飽和  $\gamma$ -ジカルボニル化合物の生成比

Table 5 Experimental and calculated values of the ratio

	(CHO) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> COCHO	(CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub>						
<i>o</i> -Xylene									
exp.	0.20	0.56	0.24						
calc.	0.17	0.58	0.25	0.25	0.58	—	0.17	—	—
<i>m</i> -Xylene									
exp.	0.24	0.76	—	—	—	—	—	—	—
calc.	0.25	0.75	—	—	0.50	0.25	—	0.25	—
<i>p</i> -Xylene									
exp.	0.67	0.33	—	—	—	—	—	—	—
calc.	0.67	0.33	—	—	—	0.33	—	—	0.67

a) 仮定-1~3 (本文参照) を用いて計算

併せて載せてある。

全光酸化反応中、環開裂反応の占める割合は、*o*-、*m*-、*p*-キシレンで各々41、55、36%となる。この値はトルエン(29%)、ベンゼン(15~20%)に比べて大きい。*m*-キシレンで最も大きい環開裂の比率を示すのは、*m*-キシレンでは特に芳香環へのOHラジカルの付加反応が促進されるためと考えられる。付加反応と競争する側鎖からの水素引き抜きによる反応の比率が*m*-キシレンで最小(表4参照)となることと矛盾しない。*o*-キシレンの方が*p*-キシレンよりも環開裂の比率が高くなる理由は明確ではない。ただし、C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>シクロアルカンの光酸化反応の研究<sup>40)</sup>で示されたように環状化合物における環のひずみエネルギーの違いが、6,7-ジオキサビシクロ[3.2.1]オクチルオキシルラジカルからの環開裂の起こりやすさに影響していることが考えられる。シクロアルカン類では、振動励起されたシクロアルキルオキシルラジカルが、C<sub>5</sub>>C<sub>7</sub>>C<sub>6</sub>の環ひずみエネルギーの大きさの順と同じ順序で環開裂を起こしやすいことが示された<sup>40)</sup>。*o*-キシレンではメチル置換基が隣接していることにより、その反発からひずみが*p*-キシレンより大きくなっている可能性がある。

#### 未同定の赤外吸収スペクトルと不飽和 $\gamma$ -ジカルボニル化合物

図7のb, d, fに示したスペクトルは*o*-、*m*-、*p*-キシレン光酸化反応で生成した未同定化合物の赤外吸収を示す。1800cm<sup>-1</sup>付近の吸収はトルエンのところで述べたように主にカルボン酸、酸無水物、パーオキシアシルナイトレート(C=O伸縮振動)に対応するものと考えられる。酸無水物として無水マレイン酸(MAH)の生成が*o*-キシレンの場合に観測された。MAHは*o*-キシレン減少に対して直線的な増加を示す(図9)が、トルエンの場合に検討したように、シス-2-ブテンジアルから生成する二次生成物と考えられる。上で採用した反応機構に従えば、シス-2-ブテンジアルは*o*-キシレンからしか生成せず(表5)、MAHがこの不飽和 $\gamma$ -ジカルボニル化合物から生成していることを示唆している。MAHがシス-2-ブテンジアルから生成するとすれば、メチルマレイン酸無水物が2-メチル-2-ブテンジアル(*m*-、*p*-キシレンからの生成物)から生成すると期待されるが、メチルマレイン酸無水物の標準スペクトルに一致する吸収は見られなかった。*m*-キシレンでは、同程度の反応率での*o*-、*p*-キシレンのスペクトルと比較して、1800cm<sup>-1</sup>の吸収(図中矢印で示した)が顕著である。この吸収は、*m*-キシレン及び1,3,5-トリメチルベンゼンの場合に顕著にみられ、長時間の光照射により強度を増加する。この吸収を与える化合物を同定することはできなかったが、*m*-キシレン及び1,3,5-トリメチルベンゼンではカルボン酸又は酸無水物の生成が著しいものと思われる。

1750から1700cm<sup>-1</sup>にかけての強い吸収は、主にアルデヒド、ケトン、ジアルデヒド、ジケトン類によるものと思われる。表5にみたように不飽和 $\gamma$ -ジカルボニル化合物が生成しているならば、それらの化合物はこの領域に強い吸収を持っている。炭化水素-窒素酸化物-空気系光酸化反応で生成する他の典型的な化合物としてナイトレート類があるが、これらは~1670、~1280、~850cm<sup>-1</sup>

に特性吸収を持つ。図7 b, d, fにみられるように、ナイトレート類は主生成物として検出されなかった。1400から800 $\text{cm}^{-1}$ 領域は一般に骨格振動による吸収がみられるところである。図7 b, d, fの1400~900 $\text{cm}^{-1}$ の範囲を拡大したものが図10a, b, cである(ただし, HONOの吸収は引いてある)。Scheme III及び表5でみてきた不飽和 $\gamma$ -ジカルボニル化合物のうち、3-ヘキセン-2,5-ジオンはアルデヒド基を持っていないことからOHラジカルの攻撃に対して最も安定であると期待される。実際、Takagiら<sup>41)</sup>は、1, 2, 4-トリメチルベンゼン及び*p*-キシレン光酸化反応生成物のGC/MSによる分析を行い、3-ヘキセン-2,5-ジオンを検出することができた<sup>41)</sup>。そこで本研究でも、3-ヘキセン-2,5-ジオンの直接検出を試みた。3-ヘキセン-2,5-ジオンはアセトニルアセトンと亜セレン酸の反応により合成<sup>41, 42)</sup>した。こうして得た3-ヘキセン-2,5-ジオンの標準スペクトルを図10dに示す。*p*-キシレンの場合のみ(スペクトルc) 3-ヘキセン-2,5-ジオンに重なる吸収帯がみられる。図10eはc-dを示す。このようにして求めた3-ヘキセン-2,5-ジオンの収率は約0.08であった。ただし、この値は図10からも明らかのようにスペクトル減算に伴う不確実性が大きく、 $0.08 \pm 0.08$ とすべきであろう。最近、Tuazonら<sup>43)</sup>はシス-とトランス-の3-ヘキセン-2,5-ジオンの光化学反応を研究し、その結果を報告した。彼らの報告によれば、3-ヘキセン-2,5-ジオンは二つの異性体相互間で光異性化反応を行い、異性化反応は全反応の80%以上を占めること、また彼らの光照射条件(光量は $\text{NO}_2$ 光分解速度として $2.1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ )下、数十分で[トランス]/[シス] $\approx 0.55 \pm 0.05$ の光定常状態が達成される。彼らの報告した両異性体の赤外吸収スペクトルから、図10dに示したものはトランス異性体によるものであることが判明した。ここで考えている反応機構からは、シス異性体が一次生成物として生成するはずである。彼らによって報告されたシス異性体の赤外吸収スペクトルは約1160 $\text{cm}^{-1}$ に強い吸収を示しているだけで、この領域は図10eのスペクトルでは他の吸収と重なっており、シス異性体の存在を確認することができなかった。しかし、本実験における光量( $\text{NO}_2$ 光分解速度として $3.7 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ )と彼らのデータから判断すると、本実験条件下では約20分程度で3-ヘキセン-2,5-ジオンは光定常状態を達成すると考えられるので、この実験で測定したトランス-3-ヘキセン-2,5-ジオンの収率は[トランス]/[シス] $\approx 0.5$ の光定常状態下での値と仮定すると、生成する全3-ヘキセン-2,5-ジオンの収率は $0.24 (\pm 0.24)$ となる。この値は*p*-キシレン光酸化反応における3-ヘキセン-2,5-ジオン生成の対であるグリオキザール生成(Scheme III, 反応式(21a))の収率 $0.24 \pm 0.02$ と良い一致を示す。

その他の不飽和 $\gamma$ -ジカルボニル化合物、2-ブテンジアル及び4-オキソ-2-ペンテナールの合成も試みた。これらの化合物は容易に重合したりガラス状に固化するため精製が難しく、標準スペクトルの測定はできなかった。しかし、既に述べたように、残余スペクトル(図7 b, d, f)にみられる顕著な $\text{C}=\text{O}$ 伸縮振動による吸収の存在は、これら不飽和 $\gamma$ -ジカルボニル化合物の生成を示唆しているものと思われる。

本研究では、キシレンの光酸化反応について、*o*-, *m*-, *p*-キシレンの光酸化反応生成物、特に環開裂反応生成物の分析を行いその反応機構を検討した。提案された環開裂反応機構、OH-アルキ

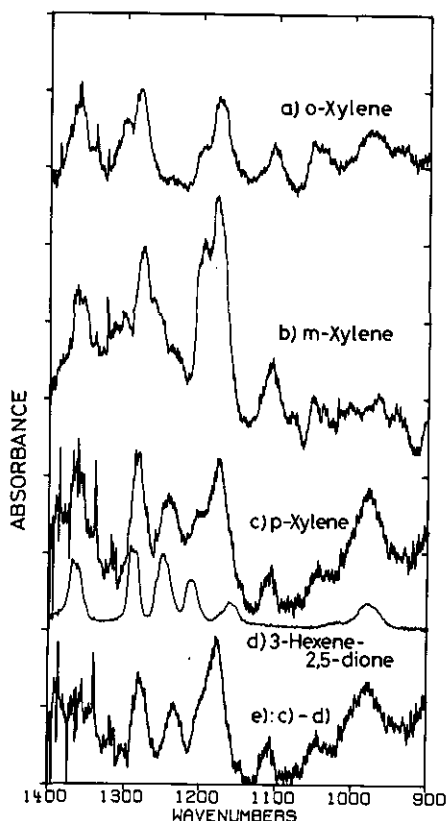


図 10 1400-900 $\text{cm}^{-1}$ 領域における未同定反応生成物による赤外吸収スペクトル  
 実験は図7に同じ。a), b), c) は各々 *o*-, *m*-, *p*-キシレンに対応。d) : トランス-3-ヘキセン-2, 5-ジオンの標準スペクトル。e) : c) - d) 差スペクトル  
 Fig. 10 Residual IR spectra in the frequency region of 1400-900 $\text{cm}^{-1}$

ルベンゼン- $\text{O}_2$  付加体からビシクロ[3.2.1]環化を経て環開裂に至る反応経路は仮定-1-3を導入することにより、トルエン、キシレンにおける環開裂反応生成物の分析をうまく説明した。またこの反応機構は、本研究で分析することのできた不飽和 $\gamma$ -ジカルボニル化合物、無水マレイン酸(シス-2-ブテンアル)と3-ヘキセン-2, 5-ジオン、の生成も説明することができた。また、*o*-, *m*-, *p*-キシレン全光酸化に占める環開裂反応の割合は各々41, 55, 36%と求められた。これらのデータは、芳香族炭化水素を含む大気的光化学汚染の理解及びモデルシミュレーションのために重要な情報となるものと期待される。

### 3. 3 トリメチルベンゼン

前2節では、ベンゼン、トルエン、キシレンの光酸化反応生成物の研究から、環開裂反応の重要性を指摘し、その反応機構について検討を行った。ここでは、アルキルベンゼンとしてさらにトリ



メチルベンゼンまで拡張し、主に  $\alpha$ -ジカルボニル化合物の分析結果をもとに、前節で提案した環開裂反応の機構が一般則としてトリメチルベンゼンにまで適応できるかどうかを検討した。また、アルキルベンゼン類の光酸化過程の中で、オキシダント生成に最も重要な環開裂反応の占める割合が、ベンゼン<トルエン<キシレンと置換基の増加に伴って大きくなる傾向がトリメチルベンゼンではどのようなになるかも興味ある課題である。

### トリメチルベンゼン光酸化反応生成物

トリメチルベンゼンの3種類の異性体(1, 2, 3-, 1, 2, 4-, 及び1, 3, 5-) 各々について、トリメチルベンゼン(4 ppm)-NO(1.5ppm)-NO<sub>2</sub>(0.5ppm)-空気(1気圧)で光酸化反応を行い、その反応生成物を分析した。

反応生成物の赤外吸収スペクトルを、各々の異性体について図11a, c, eに示した。いずれも約20%のトリメチルベンゼンが反応した時点でのスペクトルである。スペクトルb, d, f, は未同定反応生成物による残余スペクトルである。トルエン、キシレンの場合と異なり、C-H伸縮振動の領域(3010~2850cm<sup>-1</sup>)にまだかなりの吸収が残っているのがみられる。これは、後でみるように、トルエン、キシレンに比較して環開裂反応の割合の高いことと、それによって生成する不飽和  $\gamma$ -ジカルボニルがより多くメチル置換されていることに依ると思われる。トリメチルベンゼンの場合もトルエン、キシレンの場合同様、1800及び1700cm<sup>-1</sup>付近のC=O伸縮振動による吸収が最も顕著であり、カルボニル化合物が多く生成していることを示している。1, 3, 5-トリメチルベンゼンのスペクトルfに矢印で示した吸収は、*m*-キシレンの場合同様、長時間の光酸化反応で顕著に増加した。これは1, 3-ジメチル型のアルキルベンゼンに特有の生成物と思われるが同定することはできなかった。

全トリメチルベンゼンにわたって同定された反応生成物は、ホルムアルデヒド、ギ酸、PANであった。また  $\alpha$ -ジカルボニル化合物として、グリオキザール、メチルグリオキザール、ピアセチルが1, 2, 3-及び1, 2, 4-トリメチルベンゼンから、1, 3, 5-トリメチルベンゼンからはメチルグリオキザールのみが検出された。ベンゼン、トルエン、*o*-キシレンで検出された無水マレイン酸はいずれの反応からも検出できなかった。また、これに代わるものとしてトリメチルベンゼンの構造からメチルマレイン酸及びジメチルマレイン酸の酸無水物が生成することが期待されたが検出することはできなかった。トルエン、キシレンで用いたと同様の方法により  $\alpha$ -ジカルボニル化合物の収率を求め、その値を表6に例記した。1, 2, 3- 及び1, 3, 5-トリメチルベンゼンでは、 $\alpha$ -ジカルボニル化合物の収率が高く、全光酸化反応のうち65~70%が環開裂反応で占められていることがわかる。

### $\alpha$ -ジカルボニル化合物の生成比と反応機構

前節で示した環開裂反応の機構と、仮定-1によるトリメチルベンゼンの反応過程をScheme IV

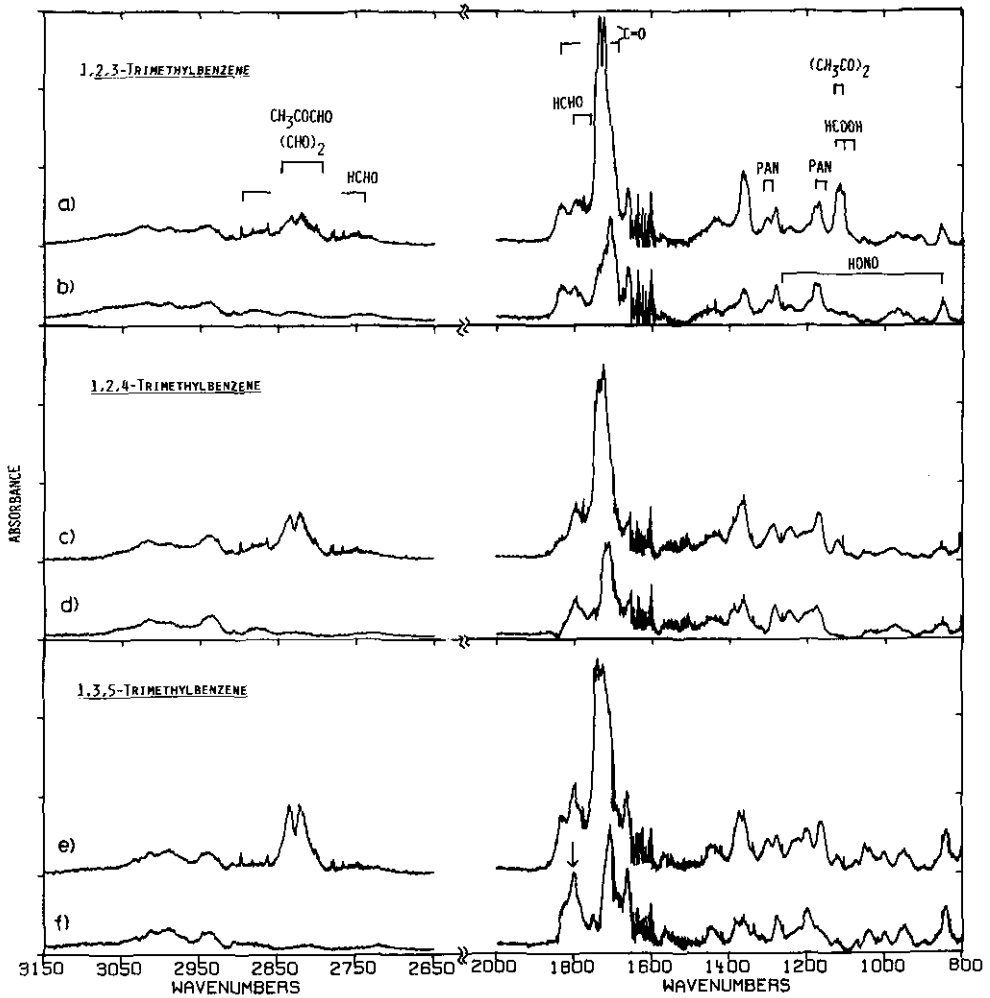


図 11 反応生成物の赤外吸収スペクトル(反応物の寄与を引いたもの)及び同定された生成物の寄与をすべて引いた残りのスペクトル(未同定反応生成物による)  
 a), c), e) : トリメチルベンゼン(4 ppm)-NO(1.5ppm)-NO<sub>2</sub>(0.5ppm)-空気(1気圧)系光酸化反応における生成物のスペクトル。初期濃度の18~19%のトリメチルベンゼンが反応したところ。a), c), e) は各々, 1, 2, 3-, 1, 2, 4-, 1, 3, 5-トリメチルベンゼンに対応。b) : 同定された生成物(H<sub>2</sub>CO, HCOOH, (CHO)<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>COCHO, (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>, 及びPAN)の寄与をa)から引いた残りのスペクトル。d) : 同定された生成物(H<sub>2</sub>CO, HCOOH, (CHO)<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>COCHO, (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>, 及びPAN)の寄与をc)から引いた残りのスペクトル。f) : 同定された生成物(H<sub>2</sub>CO, HCOOH, CH<sub>3</sub>COCHO, 及びPAN)の寄与をe)から引いた残りのスペクトル。

Fig. 11 Product IR spectra (spectra of reactants were subtracted) and residual IR spectra (spectra of products identified were subtracted)

表 6 トリメチルベンゼン-NO<sub>x</sub>-空気系光酸化反応における生成物の収率 (Δ生成物/Δトリメチルベンゼン)

Table 6 Yield of Products<sup>a)</sup> (Δ Product/Δ Trimethylbenzene) in the Photooxidation of Trimethylbenzenes<sup>b)</sup>

Product	Run	1,2,3-Trimethylbenzene				1,2,4-Trimethylbenzene				1,3,5-Trimethylbenzene			
		1	2	3	Ave. <sup>c)</sup>	4	5	6	Ave. <sup>c)</sup>	7	8	9	Ave. <sup>c)</sup>
HCHO		0.17	0.18	0.17	0.17±0.01	0.18	0.18	0.17	0.18±0.01	0.15	0.15	0.16	0.15±0.01
(CHO) <sub>2</sub>		0.073	0.071	0.071	0.072±0.001	0.072	0.081	0.081	0.078±0.005	—	—	—	—
CH <sub>3</sub> COCHO		0.17	0.18	0.19	0.18±0.01	0.38	0.37	0.36	0.37±0.01	0.67	0.63	0.63	0.64±0.0
(CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub>		0.44	0.45	0.47	0.45±0.02	0.09	0.11	0.11	0.11±0.01	—	—	—	—
Total yield of α-dicarbonyls					0.70±0.02				0.56±0.02				0.64±0.0

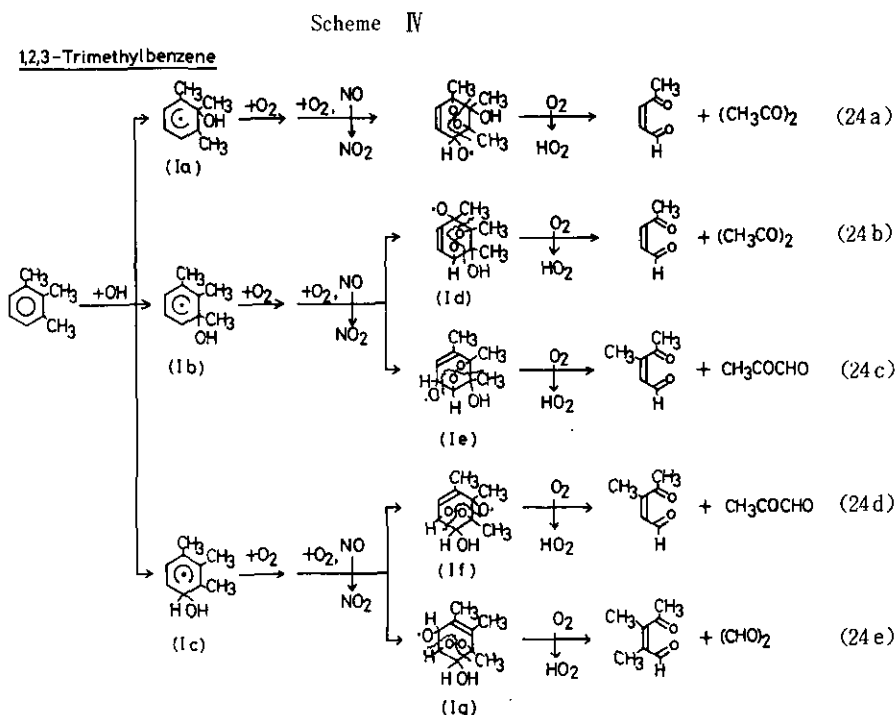
a) Values were calculated by the least-square fit of six initial points of each run

b) Initial concentrations of reactants were 4 ppm trimethylbenzene, 1.5ppm NO, and 0.5ppm NO<sub>2</sub> in 1 atm (=101 kPa) air in all runs.

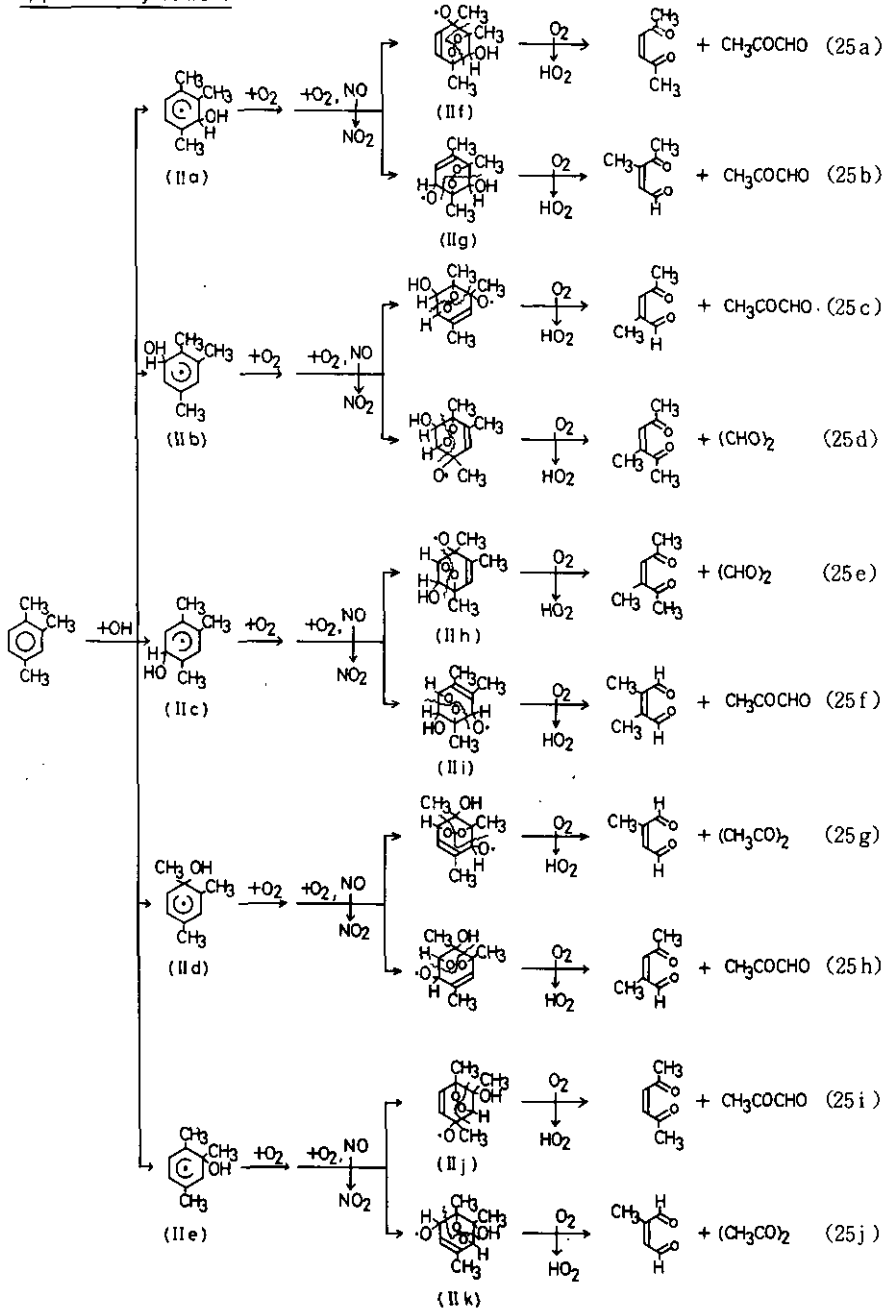
c) The indicated errors are one standard deviation of three runs.

に示した。Scheme IV では類雑になることを避けるために、OH-トリメチルベンゼン付加体への  $O_2$  付加過程及び環化による6,7-ジオキサビシクロ[3.2.1]オクタン化合物(アリルラジカル)の生成過程は省略してある。環開裂反応生成物の生成比を計算するために使われた反応の分岐比は以下のとおりである： a) 対称性による等価の位置の数と仮定-1及び-3の組合せにより次の化合物の生成比は I a : I b : I c = 1 : 1 : 1, II a : II b : II c : II d : II e = 2 : 1 : 1 : 1 : 1; b) 仮定-2により I d : I e = 2 : 1, I f : I g = 2 : 1, II f : II g = 2 : 1, II h : II i = 2 : 1, II j : II k = 2 : 1; c) それ以外の過程では1 : 1の生成比。以上の値を用いて計算した  $\alpha$ -ジカルボニル及び不飽和  $\gamma$ -ジカルボニル化合物の生成比を、実験値とともに表7に示した。実験誤差を考慮に入れると、計算により求めた値はかなり良く実験結果を再現している。前節で述べたように、1-及び3-位にメチル基がある場合、2-位への付加が他のオルト位への付加の2倍の確率で進行するとした仮定(仮定-3)は計算結果に大きな影響を与えた。仮定-3を除き、OH付加が全オルト位に対して等確率で進行するとした場合、計算から予想されるグリオキサール：メチルグリオキサール：ピアセチルの生成比は、1,2,3-及び1,2,4-トリメチルベンゼンで各々0.20 : 0.40 : 0.40及び0.23 : 0.60 : 0.17となり、表7で得た結果程に満足すべき値は得られなかった。このように前節で提案した反応機構と仮定-1~3の組合せが、トリメチルベンゼンの光酸化による環開裂反応にも適応できることが実証された。

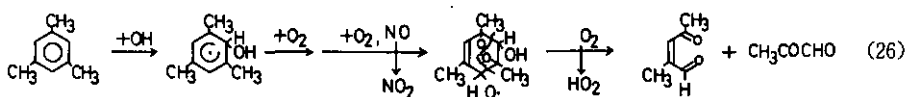
表7からわかるように1,2,4-トリメチルベンゼンの光酸化から3-ヘキセン-2,5-ジオンが生



1,2,4-Trimethyl benzene



1,3,5-Trimethyl benzene



成することが期待される。実際、Takagiら<sup>41)</sup>は1, 2, 4-トリメチルベンゼン光酸化により3-ヘキセン-2,5-ジオンが生成することをGC/MSを使って確認した。図12は、図11で示した各トリメチルベンゼンにおける残余スペクトルの骨格振動による吸収領域を拡大したものである。図12a, b, cは各々1, 2, 3-, 1, 3, 5-及び1, 2, 4-の順になっている(図11の順とは異なっていることに注意)。スペクトルdはトランス-3-ヘキセン-2,5-ジオンの標準スペクトルを示す。スペクトルa, bでは標準スペクトルにみられる1300~1200cm<sup>-1</sup>の特徴的な構造がみられないが、スペクトルcでは他の吸収帯の重なりがあるものの、標準スペクトルの構造に対応する位置に吸収がみられる。スペクトルeはd-cを示す。スペクトル減算のファクターから計算されたトランス-3-ヘキセン-2, 5-ジオンの1, 2, 4-トリメチルベンゼン減少量に対する収率は約0.06±0.06となった。p-キシレンの場合に考察したように、3-ヘキセン-2,5-ジオンは本実験条件下で光異性化反応により[トランス]

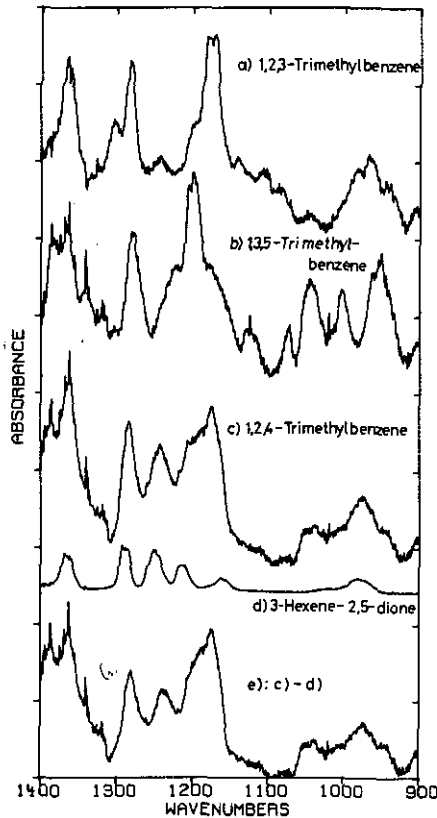


図 12 1400-900cm<sup>-1</sup>領域における未同定反応生成物による赤外吸収スペクトル  
 実験は図11に同じ。a), b), c) は各々1, 2, 3-, 1, 3, 5-, 1, 2, 4-トリメチルベンゼンに対応。d) : トランス-3-ヘキセン-2,5-ジオンの標準スペクトル。e) : c) -d) 差スペクトル。

Fig. 12 Residual spectra in the frequency region of 1400-900cm<sup>-1</sup>

/[シス]  $\approx 0.5$  の値で光定常状態になっていると推定されることから、1, 2, 4-トリメチルベンゼンからの3-ヘキセン-2,5-ジオンの本実験における収率は約 $0.18 \pm 0.18$ 程度と見積もることができる。この値は1, 2, 4-トリメチルベンゼンにおけるメチルグリオキサールの収率 $0.37 \pm 0.01$ の約1/2であり、予想される相対収率(表7参照)とよく一致している。

### 環開裂反応の比率

トリメチルベンゼンの全光酸化反応に占める環開裂反応の割合は1, 2, 3-, 1, 2, 4-及び1, 3, 5-異性体で各々70, 56, 64%であった。これらの値は(特に1, 2, 3-及び1, 3, 5-異性体において)トルエン(29%), *o*-, *p*-キシレン(各々41, 36%)に比べてかなり高い値である。また*m*-キシレン(55%)と1, 2, 4-トリメチルベンゼンは同程度の割合を示した。環開裂反応の比率を決める要素として次のものが考えられる: 1) 芳香族へのOHラジカルの付加反応と側鎖からの水素原子引き抜き反応の分岐比; 2) OH-アルキルベンゼン-O<sub>2</sub>付加体からのビシクロ環化過程(トルエンの場合では反応式(7)の最初のステップ)とO<sub>2</sub>による芳香環からの水素引き抜きによるフェノール類生成過程(トルエンの場合, 反応式(3))の分岐比; 3) 6, 7-ジオキサビシクロ[3, 2, 1]オクチルオキシル化合物の持つひずみエネルギー。









第1の要素に関しては、OHラジカルによるアルキルベンゼンの全反応のうち芳香環への付加の占める割合がベンゼン、トルエン、キシレン、及びトリメチルベンゼンで各々100% (側鎖なし)、85~95%, 90~95%, 及び97~98%と見積もられている<sup>5d)</sup>ことから、この要素だけでは環開裂反応の比率の大きな変化(ベンゼンにおける15~20%から最大が1, 2, 3-トリメチルベンゼンにおける70%まで)を説明できない。

第2の要素は重要であると思われる。環化過程の確率は、OH-アルキルベンゼン-O<sub>2</sub>付加体における末端酸素原子が架橋する際に付加する炭素の親電子反応に対する反応性に依存すると考えられる。メチル置換基の数が増加するに従って環の電子密度が高くなり環化過程が促進されると考えることは合理的である。このことはベンゼン<トルエン<キシレン<トリメチルベンゼンの順で環開裂過程の比率が高くなってゆくことを説明する。*m*-キシレン及び1, 3, 5-トリメチルベンゼンで特に環開裂反応の比率が高くなっていることは、メタ置換が特にOH-アルキルベンゼン-O<sub>2</sub>付加体の環化反応を促進するのに有利であることを示唆している。

第3の要素については既に、キシレンの項で検討した。隣接するメチル置換の反発によるひずみエネルギーの大きさについては不明であるが、高高いメチル基が混み合った構造を持つほど、相対的にひずみエネルギーが大きくなると考えられる。したがって1, 3, 5-異性体よりも1, 2, 3-ト

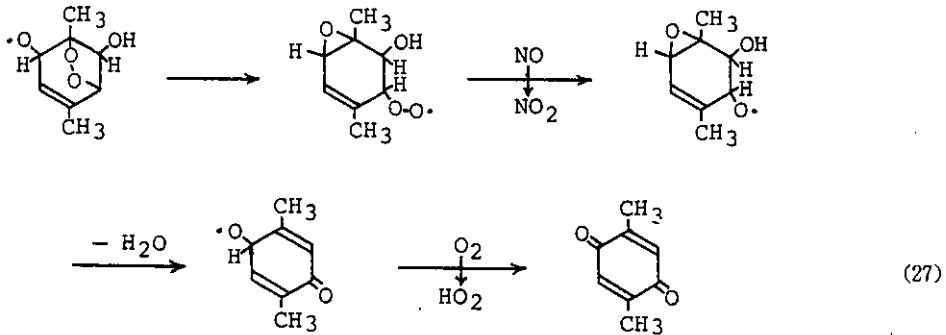
表 7 実験及び計算から求められた  $\alpha$ -及び不飽和 $\gamma$ -ジカルボニル化合物の生成比

 Table 7 Experimental and calculated relative yields of  $\alpha$ - and unsaturated  $\gamma$ -dicarbonyls

	$(\text{CHO})_2$	$\text{CH}_3\text{COCHO}$	$(\text{CH}_3\text{CO})_2$								
<u>1, 2, 3-Trimethylbenzene</u>											
exp.	0.10	0.26	0.64								
calc.	0.11	0.33	0.56	0.56	—	—	0.33	—	—	0.11	—
<u>1, 2, 4-Trimethylbenzene</u>											
exp.	0.14	0.66	0.20								
calc.	0.19	0.67	0.14	—	0.14	0.06	0.11	0.17	0.33	—	0.19
<u>1, 3, 5-Trimethylbenzene</u>											
exp.	—	1.0	—								
calc.	—	1.0	—	—	—	—	—	1.0	—	—	—



リメチルベンゼンが、また*p*-キシレンより*o*-キシレンが高い環開裂の比率を示すことは、部分的にこの歪エネルギーの差に依存していると思われる。環開裂をしなかった場合の6,7-ジオキサビシクロ[3.2.1]オクチルオキシラジカルが生成物として何になるか明確ではない。一つの可能性としてキノン類の生成が考えられる。例えば*p*-キシレンの場合、次の反応



で、ジメチル-*p*-ベンゾキノンが生成する過程が考えらる。少量ではあるが*o*-, *m*-, *p*-キシレン光酸化でジメチル-*p*-ベンゾキノンの生成することが報告<sup>14,44)</sup>されており、*p*-キシレンにおいて最も高い相対収率を示している<sup>44)</sup>ことは環開裂の比率と関連して興味深い。

このように、環開裂過程は幾つかの要素に左右されており、実験で得られた環開裂反応の比率の変化のうちある部分については説明できるものの、定量的な評価は現在のところ不可能である。

#### 4 まとめ

本研究では、芳香族炭化水素の光酸化反応のうち従来その重要性が指摘されていながら比較的研究が遅れていた環開裂反応を中心に、アルキルベンゼン光酸化反応の生成物の同定・定量を行うとともに、その生成機構についても検討した。本研究では、従来一般に用いられてきたGCあるいはGC/MSに替え、長光路光学系と組み合わせられたFT-TRによって定量分析を行った。この方法では、濃縮等の前処理なしで反応生成物を直接分析できるという利点があり、この研究で対象とした化合物の中でも特に $\alpha$ -ジカルボニル化合物の同定・定量に対して有効で、信頼性の高いデータを得ることができた。本研究により得られた成果をまとめると次のとおりである。

(1) 本研究で調べられたすべてのアルキルベンゼン類で環開裂反応がみられ、環開裂反応生成物として $\alpha$ -ジカルボニル化合物が共通に見いだされた。検出された $\alpha$ -ジカルボニル化合物は、次のとおりである。

芳香族炭化水素	生成する $\alpha$ -ジカルボニル化合物
ベンゼン	グリオキザール
トルエン <i>m</i> -, <i>p</i> -キシレン	グリオキザール, メチルグリオキザール
<i>o</i> -キシレン 1,2,3-及び1,2,4- トリメチルベンゼン	グリオキザール, メチルグリオキザール, ピアセチル
1,3,5-トリメチル ベンゼン	メチルグリオキザール

また定量分析によりこれらの生成物の収率が求められた(ベンゼンからのグリオキザールの収率=0.15~0.20, その他は表2, 表3, 表6を参照)。

(2)  $\alpha$ -ジカルボニル化合物以外の環開裂反応生成物としては, *p*-キシレン及び1,2,4-トリメチルベンゼンから3-ヘキセン-2,5-ジオンの生成が, ベンゼン, トルエン, 及び*o*-キシレンから無水マレイン酸の生成が見いだされた。無水マレイン酸は環開裂によって生成する不飽和  $\gamma$ -ジカルボニル化合物, シス-2-ブテンジアルが更に酸化されて生成するものと考えられた。

(3) 環開裂反応の機構として, OH-アルキルベンゼン- $O_2$ 付加体からビシクロ環化過程を経て環開裂に至る経路が示唆された(Scheme I, III, IV)。また本研究で見いだされたトルエンからトリメチルベンゼンにわたる  $\alpha$ -ジカルボニル化合物の生成比の変化は, この反応過程におけるOHラジカルや  $O_2$ の付加の位置及びその反応確率の相対比によって決まることから, これらの  $\alpha$ -ジカルボニル化合物の生成比を合理的に説明するための一般則が提案された(仮定-1, 2, 3)。

(4) アルキルベンゼン光酸化反応全体に占める環開裂反応の比率は, ベンゼン:15~20%, トルエン:29%, *o*-, *m*-, *p*-キシレン:41, 55, 36%, 1,2,3-, 1,2,4-, 1,3,5-トリメチルベンゼン:70, 56, 64%であることがわかった。このように, 環開裂反応の比率は一般にメチル置換基の数が多くなる程大きくなることがわかった。また, この傾向を決めている要素について検討を行った。

光化学反応性の観点からみると芳香族炭化水素の光酸化過程の中であって環開裂反応はとりわけ重要である。環開裂反応生成物は, 一般に有機ラジカルを反応中間体とする幾つものステップを経て生成し, またそのようにして生成した反応生成物は出発物質であった芳香族炭化水素よりも高い

光化学反応性を持つことが多い。したがって、環開裂過程の起こる比率を明確にし、またその反応機構を明らかにすることは、芳香族炭化水素放出による光化学大気汚染現象解明の鍵であると言っても過言ではない。従来、環開裂反応の過程が明確でなかったこともあって、芳香族炭化水素光酸化反応のモデル計算の際、多数の分岐とそれを評価するためのパラメータの導入が必要となり、計算が複雑なものとなっていた<sup>30,45,46</sup>。

本研究で提案した反応スキームは極めて単純化されてはいるが、芳香族炭化水素光酸化過程のモデル計算や全体の光化学反応性の評価に関して、現在のところ最も適切な基礎データを与えるものと我々は考える。今後の課題としてここで提案された反応スキームの評価や、より正確な反応スキームの確立のためには、未同定の反応生成物、特に不飽和  $\gamma$ -ジカルボニル化合物、に関するデータの集積が望まれる。

## 謝 辞

本研究で議論して頂いた当研究所大気環境部畠山史郎博士に感謝致します。また実験遂行に御協力頂いた当研究所技術部高木博夫氏にここに改めて感謝致します。

## 引用文献

- 1) Kondo, J. and H. Akimoto (1975): Air pollution in Tokyo : An applications of computer simulation. *Adv. Environ. Sci. Technol.*, **5**, 1-90.
- 2) Heuss, J. M., G. J. Nebel and B. A. D'Alleva (1974): Effects of gasoline aromatic and lead content on exhaust Hydrocarbon reactivity. *Environ. Sci. Technol.*, **8**, 641-647.
- 3) Black, E. M., L. E. High and J. M. Lang (1980): Composition of automobile evaporative and tailpipe hydrocarbon emissions. *J. Air Pollut. Control Assoc.*, **30**, 1216-1221.
- 4) a) Lonneman, W. A., S. L. Kopczynski, P. E. Darley and F. D. Sutterfield (1974): Hydrocarbon composition of urban air pollution. *Environ. Sci. Technol.*, **8**, 229-236.  
 b) 近本武次・迫田吉之助 (1977): 大気中の芳香族炭化水素. *大気汚染研究*, **12**, 389-401.  
 c) Lonneman, W. A., R. L. Seila and J. J. Bufalini (1978): Ambient air hydrocarbon concentration in Florida. *Environ. Sci. Technol.*, **12**, 459-463.  
 d) 酒巻史郎・高木博夫・秋元 肇 (1984): 真空排気型スモッグチャンバーによる環境大気光照射実験におけるオゾン生成の研究. *国立公害研究所研究報告*, 第59号, 31-48.
- 5) a) Davis, D. D., W. Bollinger and S. Fischer (1975): A kinetic study of the reaction of the OH free radical with aromatic compounds. I. Absolute rate constants for reaction with benzene and toluene at 300°K. *J. Phys. Chem.*, **79**, 293-294.  
 b) Hansen, D. A., R. Atkinson and J. N. Pitts, Jr. (1975): Rate constants for the reaction of OH radicals with a series of aromatic hydrocarbons. *J. Phys. Chem.*, **79**, 1763-1766.  
 c) Doyle, G. J., Lloyd, K. R. Darnall, A. M. Winer and J. N. Pitts, Jr. (1975): Gas phase kinetic study of relative rates of reaction of selected aromatic compounds with hydroxyl radicals in an environmental

- chamber. *Environ. Sci. Technol.*, **9**, 237-241.
- d) Perry, R. A., R. Atkinson and J. N. Pitts, Jr. (1977): Kinetics and mechanism of the gas phase reaction of OH radicals with aromatic hydrocarbons over the temperature range 296-473K. *J. Phys. Chem.*, **81**, 296-304.
- e) Ravishankara, A. R., S. Wagner, S. Fischer, G. Smith, R. Schiff, R. T. Watson, G. Tesi and D. D. Davis (1978): A kinetics study of the reactions of OH with several aromatic and olefinic compounds. *Int. J. Chem. Kinet.*, **10**, 783-804.
- f) Tully, F. P., A. R. Ravishankara, R. L. Thompson, J. M. Nicovich, R. C. Shah, N. M. Kreutter and P. H. Wine (1981): Kinetics of the reactions of hydroxyl radical with benzene and toluene. *J. Phys. Chem.*, **85**, 2262-2269.
- g) Nicovich, J. M., R. L. Thompson and A. R. Ravishankara (1981): Kinetics of the reaction of the hydroxyl radical with xylenes. *J. Phys. Chem.*, **85**, 2913-2916.
- 6) 例えば文献 4 d) 他,  
Calvert, J. G. (1976): Hydrocarbon involvement in photochemical smog formation in Los Angeles atmosphere. *Environ. Sci. Technol.*, **10**, 256-262.
- 7) Nojima, K., K. Fukaya, S. Fukui and S. Kanno (1975): Studies on photochemistry of aromatic hydrocarbons II. The formations of nitrophenols and nitrobenzene by the photochemical reaction of benzene in the presence of nitrogen monoxide. *Chemosphere.*, **2**, 77-82.
- 8) Spicer, C. W. and P. W. Jones (1977): The fate of aromatic hydrocarbons in photochemical smog systems: Toluene. *J. Air Pollut. Control Assoc.*, **27**, 1122-1125.
- 9) Hoshino, M., H. Akimoto and M. Okuda (1978): Photochemical oxidation of benzene, toluene, and ethylbenzene initiated by OH radicals in the gas phase. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 718-724.
- 10) Akimoto, H., M. Hoshino, G. Inoue, M. Okuda and N. Washida (1978): Reaction mechanism of the photooxidation of the toluene-NO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub>-N<sub>2</sub> system in the gas phase. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 2496-2502.
- 11) a) Kenley, R. A., J. E. Davenport and D. G. Hendry (1978): Hydroxyl radical reactions in the gas phase. Products and pathways for the reaction of OH with toluene. *J. Phys. Chem.*, **82**, 1095-1096.  
b) Kenley, R. A., J. E. Davenport and D. G. Hendry (1981): Gas-phase hydroxyl radical reactions. Products and pathways for the reaction of OH with aromatic hydrocarbons. *J. Phys. Chem.*, **85**, 2740-2746.
- 12) Nojima, K., K. Fukaya, S. Fukui and S. Kanno (1974): The formation of glyoxals by the photochemical reaction of aromatic hydrocarbons in the presence of nitrogen monoxide. *Chemosphere*, **5**, 247-252.
- 13) Darnall, K. R., R. Atkinson and J. N. Pitts, Jr. (1979): Observation of biacetyl from the reaction of OH radicals with *o*-xylene. evidence for ring cleavage. *J. Phys. Chem.*, **83**, 1943-1946.
- 14) Takagi, H., N. Washida, H. Akimoto, K. Nagasawa, Y. Usui and M. Okuda (1980): Photooxidation of *o*-xylene in the NO-H<sub>2</sub>O-air system. *J. Phys. Chem.*, **84**, 478-483.
- 15) Tuazon, E. C., R. Atkinson, H. MacLeod, H. W. Biermann, A. M. Winer, W. P. L. Carter and J. N. Pitts, Jr. (1984): Yields of glyoxal and methylglyoxal from the NO<sub>x</sub>-Air photooxidations of toluene and *m*- and *p*-xylene. *Environ. Sci. Technol.*, **18**, 981-984.
- 16) Kocyzynski, S. L. (1964): Photo-oxidation of alkylbenzene-nitrogen dioxide mixtures in air. *Int. J. Air*

- Wat. Pollut., **8**, 107-120.
- 17) Heuss, J. M. and W. A. Glasson (1968): Hydrocarbon reactivity and eye irritation. Environ. Sci. Technol., **2**, 1109-1116.
- 18) Altshuller, A. P., S. L. Kopczynski, W. A. Lonneman, F. D. Sutterfield and D. L. Wilson (1970): Photochemical reactivities of aromatic hydrocarbon-nitrogen oxide and related systems. Environ. Sci. Technol., **4**, 44-49.
- 19) a) Stephens, E. R. (1964): Absorptivities for infrared determination of peroxyacyl nitrates. Anal. Chem., **36**, 928-929.  
 b) Akimoto, H., H. Bandow, F. Sakamaki, G. Inoue, M. Hoshino and M. Okuda (1980): Photooxidations of the propylene-NO<sub>x</sub>-air system studied by long-path fourier transform infrared spectrometry. Environ. Sci. Technol., **14**, 172-179.
- 20) 花井義道・加藤龍夫・山下 暁 (1979): 光化学スモッグ成分に対する芳香族炭化水素の役割—トルエンの光化学反応について—。横浜国立大学環境科学研究センター紀要, 第5巻, 53-85.
- 21) Colthup, N. B., L. H. Daly and S. E. Wiberlay (1964): Introduction to infrared and Raman spectroscopy. Academic Press, New York, 239-268.
- 22) Chan, W. H., R. J. Nordstrom, J. G. Calvert and J. H. Shaw (1976): Kinetic study of HONO formation and decay reactions in gaseous mixtures of HONO, NO, NO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, and N<sub>2</sub>. Environ. Sci. Technol., **10**, 674-682.
- 23) a) Sakamaki, F., S. Hatakeyama and H. Akimoto (1983): Formation of nitrous acid and nitric oxide in the heterogeneous dark reaction of nitrogen dioxide and water vapor in a smog chamber. Int. J. Chem. Kinet., **15**, 1013-1029.  
 b) Carter, W. P. L., R. Atkinson, A. M. Winer and J. N. Pitts, Jr. (1981): Evidence for chamber dependent radical sources: Impact on kinetic computer models for air pollution. Int. J. Chem. Kinet., **13**, 735-740.
- 24) a) Wu, C. W., C. C. Wang, S. M. Japar, L. I. Davis, Jr., M. Hanabusa, D. Killinger, H. Niki and B. Weinstock (1976): Hydroxyl radical measurement in a photochemical reactor by laser-induced fluorescence. Int. J. Chem. Kinet., **8**, 765-776.  
 b) Cox, R. A. and R. G. Derwent (1977): The ultra-violet absorption spectrum of gaseous nitrous acid. J. Photochem., **6**, 23-34.
- 25) a) Hecklen, J. K. Westenberg and N. Cohen (1971): Chemical reactions in urban atmospheres. C. Tuesday (Ed.), Elsevier, 54-59.  
 b) Gitchell, A., R. Simonaitis and J. Hecklen (1974): The inhibition of photochemical smog. I. Inhibition by phenol, benzaldehyde, and aniline. J. Air Pollut. Control Assoc., **24**, 357-361.
- 26) Lin, C. L. and M. T. Leu (1982): Temperature and third-body dependence of the rate constant for the reaction  $O + O_2 + M \rightarrow O_3 + M$ . Int. J. Chem. Kinet., **14**, 417-434.
- 27) a) Atkinson, R. and J. N. Pitts, Jr. (1975): Temperature dependence of the absolute rate constants for the reaction of O(<sup>3</sup>P) atoms with a series of aromatic hydrocarbons over the range 299-392°K. J. Phys. Chem., **79**, 295-297.  
 b) Colussi, A. J., D. L. Singleton, R. S. Irwin and R. J. Cvetanovic (1975): Absolute rates of O(<sup>3</sup>P) atom reactions with benzene and toluene. J. Phys. Chem., **79**, 1900-1903.

- c) Nicovich, J. M., C. A. Gump and A. R. Ravishankara (1982): Rates of reactions of O(<sup>3</sup>P) with benzene and toluene. *J. Phys. Chem.*, **86**, 1684-1690.
- 28) Sloane, T. M. (1978): Product analysis of the reaction of OH with benzene, toluene, and 1, 3, 5-trimethylbenzene at 300°K. *Chem. Phys. Lett.*, **54**, 269-272.
- 29) Atkinson, R., W. P. L. Carter and A. M. Winer (1983): Effects of pressure on product yields in the NO<sub>x</sub> photooxidation of selected aromatic hydrocarbons. *J. Phys. Chem.*, **87**, 1605-1610.
- 30) Atkinson, R., W. P. L. Carter, K. R. Darnall, A. M. Winer and J. N. Pitts, Jr. (1980): A smog chamber and modeling study of the gas phase NO<sub>x</sub>-air photooxidation of toluene and the cresols. *Int. J. Chem. Kinet.*, **12**, 779-836.
- 31) a) Dumdei, B. E. and R. J. O'Brien (1984): Toluene degradation products in simulated atmospheric conditions. *Nature*, **311**, 248-250.  
 b) O'Brien, R. J., B. E. Dumdei, S. V. Hummel and R. A. Yost (1984): Determination of atmospheric degradation products of toluene by tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **56**, 1329-1335.
- 32) Spepson, P. B., E. O. Edney and E. W. Corse (1984): Ring fragmentation reactions on the photooxidations of toluene and *o*-xylene. *J. Phys. Chem.*, **88**, 4122-4126.
- 33) Su, F., J. G. Calvert, J. H. Shaw, H. Niki, P. D. Maker, C. M. Savage and L. D. Breitenbach (1979): Spectroscopic and kinetic studies of a new metastable species in the photooxidation of gaseous formaldehyde. *Chem. Phys. Lett.*, **65**, 221-225.
- 34) Plum, C. N., E. Sanhueza, R. Atkinson, W. P. L. Carter and J. N. Pitts, Jr (1983): OH radical rate constants and photolysis rates of  $\alpha$ -dicarbonyls. *Environ. Sci. Technol.*, **17**, 479-484.
- 35) Washida, N., G. Inoue, H. Akimoto and M. Okuda (1978): Potential of hydrocarbons for photochemical conversion of NO to NO<sub>2</sub>. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 2215-2221.
- 36) Cox, R. A., R. G. Derwent and M. R. Williams (1980): Atmospheric photooxidation reactions. Rates, reactivity, and mechanism for reaction of organic compounds with hydroxyl radicals. *Environ. Sci. Technol.*, **14**, 57-61.
- 37) Grovenstein, Jr., E. and A. J. Mosher (1970): Reaction of atomic oxygen with aromatic hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 3810-3812.
- 39) Atkinson, R., R. A. Perry and J. N. Pitts, Jr. (1977): Absolute rate constants for the reaction of OH radicals with allene, 1,3-butadiene, and 3-methyl-1-butene over the temperature range 299-424°K. *J. Chem. Phys.*, **67**, 3170-3174.
- 40) Takagi, H., N. Washida, H. Bandow, H. Akimoto and M. Okuda (1981): Photooxidation of C<sub>5</sub> - C<sub>7</sub> cycloalkanes in the NO-H<sub>2</sub>O-air system. *J. Phys. Chem.*, **85**, 2701-2705.
- 41) Takagi, H., N. Washida, H. Akimoto and M. Okuda (1982): Observation of 3-hexene-2, 5-dione in the photooxidation of 1, 2, 4-trimethylbenzene in the NO - H<sub>2</sub>O - air system. *Spectrosc. Lett.*, **15**, 145-152.
- 42) Goldberg M. W. und P. Müller (1938): Über sterioide und sexualhormone. 46. Synthetische Versuche mit  $\alpha$ ,  $\beta$ -diacetyl-äthylen. *Helv. Chim. Acta*, **21**, 1699-1705.
- 43) Tuazon, E. C., R. Atkinson and W. P. L. Carter (1985): Atmospheric chemistry of *cis*- and *trans*-3-Hexene-2, 5-dione. *Environ. Sci. Technol.*, **19**, 265-269.
- 44) 加藤龍夫・花井義道 (1976) : 芳香族炭化水素の光化学反応に関する研究——NO+O<sub>2</sub>+h $\nu$ 系にお

ける高沸点生成物質の同定—— 横浜国立大学環境科学研究センター紀要, 第2巻, 1-11.

- 45) Killus, J. P. and G. Z. Whitten (1982): A mechanism, describing the photochemical oxidation of toluene in smog. *Atmos. Environ.*, **16**, 1973-1988.
- 46) Leone, J. A. and J. H. Seinfeld (1984): Updated chemical mechanism for atmospheric photooxidation of toluene. *Int. J. Chem. Kinet.*, **16**, 159-193.

### Ⅲ-3 培養細胞に及ぼす光化学スモッグ・シミュレートガスの細胞遺伝毒性に関する研究

#### Study of Cytogenotoxicity on Cultured Cells by Exposures to Photochemical Smog - Simulated Gases

白石不二雄<sup>1</sup>・坂東 博<sup>2</sup>・橋本 訓<sup>2</sup>

Fujio SHIRAISHI<sup>1</sup>, Hiroshi BANDOW<sup>2</sup> and Satoshi HASHIMOTO<sup>2</sup>

#### 要 旨

Chinese hamster V79 培養細胞に及ぼす光化学スモッグ・シミュレートガスの細胞遺伝毒性を検討した。

光化学スモッグ・シミュレートガスとしては、光化学スモッグチャンバーでのプロピレン+NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応により生成される反応混合物とトルエン+NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応により生成される混合物の2種類を用いた。2種類の光化学スモッグ・シミュレートガスと比較のためNO<sub>2</sub>及びO<sub>3</sub>の細胞遺伝毒性も調べられた。培養細胞は暴露システムを用いてこれらの汚染ガスに2時間暴露され、細胞毒性の指標としての増殖抑制と細胞遺伝毒性の指標としての姉妹染色分体交換 (SCE) の誘発が調べられた。

SCE の誘発は4種類の試料ガスすべてに対し増殖抑制とともに認められた。プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物のSCE頻度は最高で対照の3.9倍を示し、トルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物のSCE頻度は最高で対照の3.6倍を示した。一方、NO<sub>2</sub>及びO<sub>3</sub>のSCE頻度は最高でも対照の約1.5倍あるいは1.7倍程度であり、2種類の光化学スモッグ・シミュレートガスの細胞遺伝毒性はNO<sub>2</sub>及びO<sub>3</sub>に比べてかなり強いことが認められた。

本研究の結果は環境中の炭化水素とNO<sub>2</sub>の光化学反応が、細胞遺伝毒性の弱い、あるいはない反応物から、かなり強い細胞遺伝毒性を示す生成物を作り出すことを示唆するものである。

#### Abstract

A study was made on cytogenotoxicity of photochemical smog-simulated gases on cultured Chinese hamster V79 cells. Two kinds of photochemical smog-simulated gases

- 
1. 国立公害研究所 環境生理部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2  
Basic Medical Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
  2. 国立公害研究所 大気環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2  
Atmospheric Environmental Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.



were used; the photochemical reaction mixture of the propylene-NO<sub>2</sub>/dry air system and the toluene-NO<sub>2</sub>/dry air system produced in a photochemical smog chamber. Typical gaseous air pollutants, NO<sub>2</sub>, and O<sub>3</sub> were also used for comparison. The cultured cells were exposed to the pollutants for 2 hrs using an *in vitro* gas exposure system. The growth inhibition and the induction of sister chromatid exchanges (SCE) were investigated as an index of cytotoxicity and cytogenotoxicity, respectively. Induction of SCEs and growth inhibition were observed for all four kinds of sample gases studied. The highest SCE frequencies of the photochemical reaction products of propylene plus NO<sub>2</sub> and those of toluene plus NO<sub>2</sub> were 3.9 and 3.6 times higher than that of the control, respectively. In contrast the highest SCE frequencies of NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> were only 1.7 and 1.5 times higher than that of the control, respectively. It was also shown that cytogenotoxicities of two kinds of photochemical smog-simulated gases were considerably stronger than those of NO<sub>2</sub> alone and O<sub>3</sub> alone. These results suggest that photochemical reaction in ambient air produces the significantly cytogenotoxic mixtures from weak-, or no-cytogenotoxic reactants such as NO<sub>2</sub> and hydrocarbons.

## 1 はじめに

近年、気管支及び肺の悪性新生物が他の臓器に比べて年々増加する傾向にあり<sup>1)</sup>、呼吸器系の発がん喫煙とともに大気汚染が関連していることが指摘されている<sup>2)</sup>。

総称して大気汚染物質と言われている物質は、その存在状態によりガス状の物質と粒子状の物質に大きく分けることができる。大気中の浮遊粒子状物質についてはフィルターで捕集された試料についてその変異原性あるいは細胞遺伝毒性が微生物や培養細胞を用いた *in vitro* の迅速短期検定法により調査されている<sup>3,4)</sup>。一方、環境基準の設定されたガス状大気汚染物質としては、イオウ酸化物(SO<sub>x</sub>)、窒素酸化物(NO<sub>x</sub>)、一酸化炭素、光化学オキシダント(主にO<sub>3</sub>と Peroxyacetyl nitrate: PAN)が知られているが、ガス状での *in vitro* の暴露方法が困難なこともあって、微生物や培養細胞による変異原性や細胞遺伝性の研究は多いとは言えず、従来の研究はその強い生物学的影響のために関心が払われているNO<sub>x</sub>やO<sub>3</sub>単体に関するものがほとんどである<sup>5-8)</sup>。

環境大気中に存在する炭化水素とNO<sub>x</sub>は太陽光の照射により光化学オキシダントなどの光化学二次汚染物質を生じることはよく知られており、光化学スモッグとして人体への健康影響が社会的に注目を集めている。しかしながら、光化学スモッグの生体影響は従来その人体への影響が目刺激などの一過性の急性影響に着目されてきたため、その研究は臨床症状の報告<sup>9,10)</sup>が主体をなしており、遅発的影響であるがん原性については注意があまり払われていないというのが現状である。さらに光化学スモッグに関する暴露実験が少ない原因としては光化学スモッグを人工的に生成し、生体への暴露を試みる実験装置の開発の遅れも指摘されている。

光化学スモッグを構成する光化学二次汚染物質のうちで、変異原性や細胞遺伝毒性の研究がなされている化合物としてはO<sub>3</sub>、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドなどがあげられる。しかしながら光化学二次汚染物質としては、O<sub>3</sub>、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド以外にも変異原性や細胞遺伝毒性を示す化合物が存在することが予想され、さらにそれら化合物の複合作用により強

いがん原性を示すことも考えられる。

そこで我々は光化学スモッグチャンバーを用いて人工的な光化学二次汚染物質の混合ガス（光化学スモッグ・シミュレートガス）を生成し、その構成成分を定量分析するとともに、それらを培養細胞に暴露して影響を検索するシステムを開発した（本報告書、Ⅲ-1）。

光化学スモッグ・シミュレートガスとしては、プロピレン-NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応により生成される混合ガスとトルエン-NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応により生成される混合ガスの2種類を用いた。光化学反応にあずかる炭化水素としてはオレフィン系炭化水素のプロピレン及び芳香族炭化水素のトルエンが選択された。プロピレンとNO<sub>x</sub>の光化学反応実験は光化学スモッグの発生機序のモデルとして広く試みられており、また生成物の分析も十分に行われている<sup>11)</sup>。他方トルエンは環境大気中の炭化水素の中で重要な量を占める芳香族炭化水素の一つであり<sup>12,13)</sup>、研究プロジェクトでもこれらの光化学二次生成物の分析が詳しく行われた（本報告書、Ⅱ-1, Ⅲ-2参照）。

光化学スモッグ・シミュレートガスの培養細胞への生物学的影響として、増殖抑制を指標とする細胞毒性と姉妹染色分体交換(sister chromatid exchange ; SCE)の誘発を指標とする細胞遺伝毒性の二つの検索系を使用した。

培養細胞での細胞毒性は従来、細胞の致死効果を調べるコロニー形成法が広く用いられ、毒性作用を持つ多くの化合物間の相対評価が試みられてきた。しかしながら、NO<sub>2</sub>及びO<sub>3</sub>など酸化性の強いガス状物質は、主に暴露時のみに細胞の致死効果が強く認められ、暴露終了とともに、その致死効果は極めて弱くなりコロニー形成法では量-反応の関係を鋭敏に検索しにくいことが予備的検討で指摘された。そこで本研究では細胞への致死作用と細胞分裂の遅延作用の両面から総合的に判断できる増殖抑制作用を細胞毒性の指標として採用した。一方、細胞遺伝毒性の検索に用いられたSCE法は現在、細胞遺伝学的研究上の重要な研究手法であるとともに、その誘発が染色体DNA傷害の鋭敏な指標として用いられており、細胞遺伝毒性の指標として、さらには環境変異原物質の鋭敏な検索系として注目されている<sup>14)</sup>。

なお、光化学スモッグ・シミュレートガスの影響を代表的なガス状大気汚染物質と比較検討するために、NO<sub>2</sub>とO<sub>3</sub>について光化学スモッグ・シミュレートガスと同様の暴露実験を試みた。

## 2 実験材料及び方法

### 2.1 培養細胞

すべての暴露実験にはChinese hamster由来のV79細胞株を用い、牛胎児血清を10%になるように添加したEagle's MEM培養液（日水製薬）で培養した。

ガス暴露実験に際しては、3～4×10<sup>5</sup>個/10mlのV79細胞を培養角ビン（55×55×150mm 内容積270ml）に播種し、37°Cの5%CO<sub>2</sub>インキュベーターで約24時間、培養角ビンの一面に単層培養した。暴露直前に培養液を捨て10mlのHanks溶液（HBSS）で細胞表面を1回洗浄する。そしてNaOHでpHを調製したHBSS（NaOH-HBSS）を10ml加えた。細胞を培養した培養角ビンは1回の

暴露実験に2本用意し、1本は試料ガスの暴露に供し、もう1本は対照として清浄空気の暴露に供した。

## 2. 2 試料ガス

### 2. 2. 1 プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物

プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物はⅢ-1の報文中で述べられた光化学スモッグチャンバーを用いてプロピレン-NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応により生成され、照射継続中の反応混合物が細胞への暴露に供された。プロピレン-NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応過程においてはO<sub>3</sub>、パーオキシアセチルナイトレート (Peroxyacetyl nitrate, PAN) ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、ギ酸、Propylene glycol-1,2-dinitrate (PGDN) CO, CO<sub>2</sub>, HNO<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>などが生成されることが知られている。

本実験では、Akimotoら<sup>11)</sup>のプロピレン-NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応実験の反応条件を参考にしてプロピレンとNO<sub>2</sub>の初期反応濃度比を2:1になるように設定し、プロピレン:NO<sub>2</sub>が0.5ppm:0.25ppm, 1.0ppm:0.5ppm, 2.0ppm:1.0ppm, 及び3.0ppm:1.5ppmの4段階の初期濃度について光化学反応を行った。

プロピレン-NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応はブラックライトの連続照射により行われ、反応物のプロピレン、NO<sub>2</sub>、生物学的影響にとって重要と思われる生成物のO<sub>3</sub>、PAN、ホルムアルデヒドの5種の濃度が光化学スモッグチャンバーに内蔵されたフーリエ変換赤外分光器 (FT-IR) により経時的に測定された。

光化学反応開始後、各段階の実験とも生成物、特にO<sub>3</sub>とPANの濃度が比較的定常状態に達する時間領域が認められるが、濃度が安定しはじめてからの2時間を培養細胞の暴露時間に設定した。図1にプロピレン(3.0ppm)-NO<sub>2</sub>(1.5ppm)/乾燥空気系の光化学反応の展開の例と暴露時間を示した。表1には暴露に供した4段階のプロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物に含まれる反応物のプロピレンとNO<sub>2</sub>、生成物のO<sub>3</sub>、PAN、ホルムアルデヒドの暴露中の平均濃度を示した。

### 2. 2. 2 トルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物

トルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物は上記の光化学スモッグチャンバーを用いてトルエン-NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応により生成され、プロピレンの場合と同様に照射継続中の反応混合物を細胞への暴露に供した。

本実験ではトルエン-NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応における代表的な二次反応生成物であるO<sub>3</sub>及びPANの濃度ができるだけ高く生成されるように、トルエンとNO<sub>2</sub>の初期反応濃度比を8:1に設定し、トルエン:NO<sub>2</sub>が2.0ppm:0.25ppm, 4.0ppm:0.5ppm, 8.0ppm:1.0ppm, 12.0ppm:1.5ppm, 及び16.0ppm:2.0ppmの5段階の初期濃度について光化学反応を行った。

トルエン-NO<sub>2</sub>/乾燥空気系の光化学反応は、プロピレンの系と同様、ブラックライトの連続照射

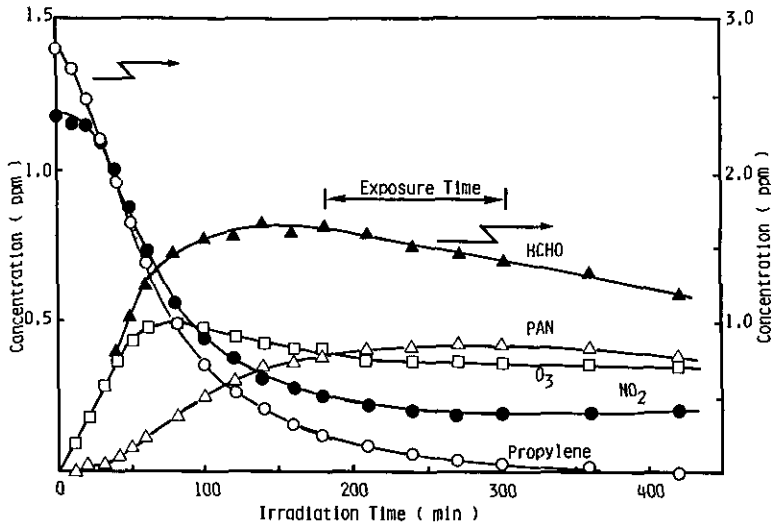


図 1 プロピレン(3.0ppm)-NO<sub>2</sub>(1.5ppm)/空気系における照射時間に対する反応物と主な生成物の濃度変化, 及び培養細胞への暴露時間

Fig. 1 Changes in concentrations of reactants and typical products versus irradiation time for the propylene(3.0ppm)-NO<sub>2</sub>(1.5ppm)/ air system and exposure time used

表 1 プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物に含まれる主な化合物の濃度  
Table 1 Concentration of typical compounds in the photochemical reaction products of propylene plus NO<sub>2</sub>

Initial concentration of reactants (ppm) (Propylene : NO <sub>2</sub> )	Concentration of compounds in the photochemical reaction products (ppm) <sup>a</sup>				
	Propylene	NO <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	PAN	HCHO
0.5 : 0.25	0.10	b	0.09	0.04	0.23
1.0 : 0.50	0.07	0.28	0.18	0.10	0.63
2.0 : 1.00	0.16	0.28	0.30	0.25	0.83
3.0 : 1.50	0.14	0.22	0.38	0.41	1.50

<sup>a</sup> Mean value of the exposure time.

<sup>b</sup> Not determined because of low reliability due to overlap of NO<sub>2</sub> absorption with water-vapor absorption.

により行われ、反応物のトルエン、NO<sub>2</sub>、生物学的影響にとって重要と思われる生成物のO<sub>3</sub>、PAN、ホルムアルデヒド、ベンズアルデヒド、グリオキザール類の8種の濃度がFT-IRにより経時的に測定された。

光化学反応開始後、各段階の実験ともO<sub>3</sub>とPANの濃度が比較的定常状態に達する時間領域の2時間を培養細胞への暴露時間に設定した。図2にトルエン(8.0ppm)-NO<sub>2</sub>(1.0ppm)/乾燥空気系の光化学反応の展開の例と暴露時間を示した。表2には暴露に供した5段階のトルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物に含まれる反応物のトルエン、NO<sub>2</sub>、生成物のO<sub>3</sub>、PAN、ホルムアルデヒド、ベンズアルデヒド、及びグリオキザールとメチルグリオキザールを合わせた暴露中の平均濃度を示した。

### 2. 2. 3 NO<sub>2</sub>

NO<sub>2</sub>はNO<sub>2</sub>100ppm/窒素バランスのボンベガスを空気洗浄装置からの純空気によりガス希釈装置を用いて所定の濃度に希釈して調製し、NO<sub>2</sub>ガス分析装置(モニターラボ社モデル8440H)で連続測定しながら、培養細胞への暴露に供した。暴露に供したNO<sub>2</sub>濃度は0.5ppm、1.0ppm、2.0ppm、4.0ppm、6.0ppm、及び8.0ppmの6段階である。

### 2. 2. 4 O<sub>3</sub>

O<sub>3</sub>は紫外線ランプを組み込んだO<sub>3</sub>発生装置に空気清浄装置からの純空気を送り込み発生させ、所定の濃度になるように純空気の流量と紫外線ランプの電圧を調節することにより調製した。O<sub>3</sub>連続測定装置(モニターラボ社モデル8410)で連続測定しながら、培養細胞への暴露に供した。暴露に供したO<sub>3</sub>濃度は0.13ppm、0.25ppm、0.5ppm、0.75ppm、及び1.00ppmの5段階である。

## 2. 3 暴露方法

生成された試料ガスは、培養細胞へのガス暴露システムに導入され、培養細胞に暴露される。培養細胞への暴露方法の詳細については、本報告書報文Ⅲ-1で述べた。プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物、トルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物、NO<sub>2</sub>、及びO<sub>3</sub>の四種類の試料ガスはいずれも毎分200mlの流量で培養角ビンに導入し、培養角ビンを0.25rpmの速度で回転する条件下で2時間暴露した。対照として空気清浄装置からの純空気を試料ガスと同様の暴露条件下で、もう一方の培養細胞に2時間暴露した。それぞれの試料ガス濃度について2回の暴露実験を行った。

## 2. 4 毒性試験法

試料ガス及び清浄空気を暴露された細胞は、速やかに暴露システムから無菌室に搬入された後、暴露中に細胞の乾燥を防ぐために使用された培養角ビンのNaOH-HBSSをデカントで静かに捨て、5-ブロムデオキシウリジン(BUdR)が10μMになるように添加されたEagle's MEM培養液20ml

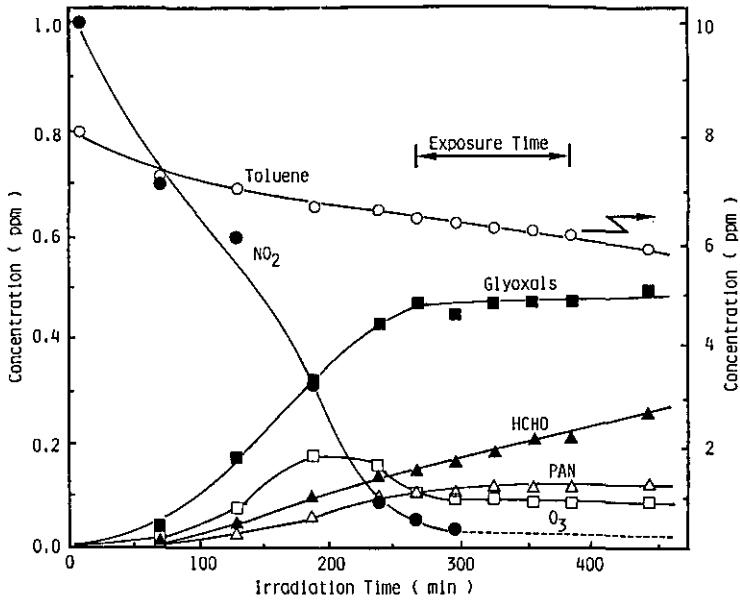


図 2 トルエン(8.0ppm)-NO<sub>2</sub>(1.0ppm)/空気系における照射時間に対する反応物と主な生成物の濃度変化, 及び培養細胞への暴露時間

Fig. 2 Changes in concentrations of reactants and typical products versus irradiation time for the toluene(8.0ppm)-NO<sub>2</sub>(1.0ppm)/air system and exposure time used

表 2 トルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物に含まれる主な化合物の濃度

Table 2 Concentration of typical compounds in the photochemical reaction products of toluene plus NO<sub>2</sub>

Initial concentration of reactants (ppm) (Toluene : NO <sub>2</sub> )	Concentration of compounds in the photochemical reaction products (ppm) <sup>a</sup>						
	Toluene	NO <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	PAN	HCHO	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CHO	Glyoxals <sup>c</sup>
2.0 : 0.25	1.22	b	0.04	0.03	0.12	0.04	0.17
4.0 : 0.50	2.59	—	0.05	0.05	0.15	0.08	0.26
8.0 : 1.0	5.96	—	0.10	0.12	0.22	0.13	0.48
12.0 : 1.5	8.92	—	0.09	0.15	0.24	0.18	0.60
16.0 : 2.0	13.40	0.15	0.13	0.16	0.22	0.22	0.60

<sup>a</sup> Mean value of the exposure time.

<sup>b</sup> Not determined because of low reliability.

<sup>c</sup> Combined concentrations of glyoxal and methyl-glyoxal.

を静かに加え、5%CO<sub>2</sub>インキュベーターで24時間静置培養された。さらに分裂中期細胞の回収を多くするために分裂中期同調薬の20μMのコルセミドが200μlずつ加えられ(最終濃度2μM)、3時間培養された。

培養後、両細胞ともトリプシン-EDTA 溶液で単離細胞とされ、浮遊液とした後、一部はコールターカウンター(インダストリアルD型)により培養ビン当たりの細胞数が算定され、残りはSCEの観察用に供された。なお、暴露以降の操作は暗所、あるいは波長500nm以下の光がカットされるイエロー蛍光灯(三菱FLR40Y-FⅡ/M)の照明のもとで行った。

細胞毒性の指標とした増殖抑制作用は暴露後増殖した細胞数を用いて次式により求められた。

$$\text{増殖抑制 (\%)} = \left(1 - \frac{B}{A}\right) \times 100$$

Aは清浄空気を暴露された後1日間培養された培養角ビン当たりの細胞数、Bは試料ガスを暴露された後1日間培養された培養角ビン当たりの細胞数を示す。

SCE観察のために用意された単離細胞は0.075MのKCl溶液により低張液処理を行った後、メタノール:酢酸(3:1)溶液を用いて3回の遠沈操作を繰り返すことにより固定を行い、メタノール:酢酸液の少量で浮遊液とした。浮遊液の2ないし3滴を、氷温に冷した60%酢酸をのせたスライドグラスに落としホットプレート上(80°C)で乾燥して染色体標本とした。染色体標本はGotoら<sup>15)</sup>により改良されたFluorescence-plus-Giemsa法(FPG法)に従って染色体の分染が行われた。SCEを観察するためにFPG法により染色がほどこされた分裂中期核板の例を図3に示す。

SCE頻度は2回分裂中期細胞を光学顕微鏡により1000倍に拡大してSCEが十分に観察できる分裂中期核板当たりのSCEの数を求めた。本実験では、各暴露実験での対照及び試料ガスそれぞれについて細胞当たりのSCE頻度を25個の分裂中期核板の平均値として算出した。そして試料ガスの暴露によるSCE頻度を対照のSCE頻度と比較するためにStudentのt-テストにより有意差の検定を行った。

### 3 結果

#### 3.1 プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物の影響

プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物の暴露によるV79細胞のSCE頻度と増殖抑制の結果を表3に示した。プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物の対照として用いられた清浄空気暴露によるSCE頻度は、細胞当たり6.48から7.20の範囲にあった。一方、最低実験濃度のプロピレン0.5ppm:NO<sub>2</sub>0.25ppmの初期反応濃度の試料ガスのSCE頻度は細胞当たり14.32及び14.04であり、それぞれの対照に比べて2.2倍及び2.0倍の値を示し、さらに最高実験濃度のプロピレン3.0ppm:NO<sub>2</sub>1.5ppmの初期反応濃度の試料ガスのSCE頻度は細胞当たり26.32及び26.04とそれぞれの対照に比べて3.8倍及び3.9倍の値を示した。実験が試みられた濃度の試料ガスはすべて対照に比べてSCE

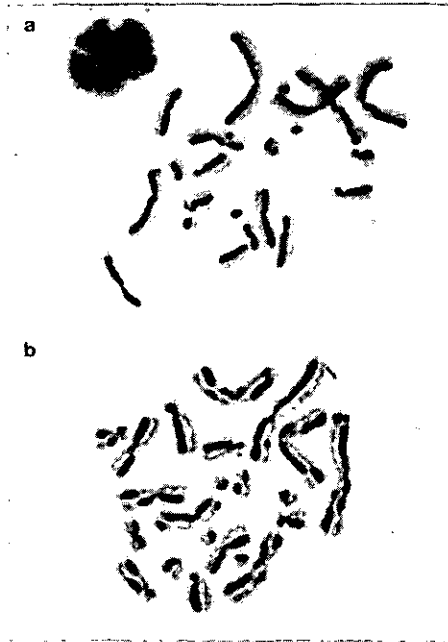


図 3 姉妹染色分体交換 (SCE) を観察するために染色をほどこした V79 の細胞の分裂中期核板  
(a) 対照の標本, (b) プロピレン+NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物(最高濃度)の標本

Fig. 3 Micrograph of chromosome spreads stained due to observation of SCEs in Chinese hamster V79 cells

頻度の有意な増加がみられたが、濃度に依存した明りょうな量—反応の関係は得られなかった。他方増殖抑制作用は表 3 にみられるように濃度に依存した影響がみられ各濃度における増殖抑制平均値は濃度の低い方から、7%、22%、44%、54%を示した。

### 3. 2 トルエン+NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物の影響

トルエン+NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物の暴露による V79 細胞の SCE 頻度と増殖抑制の結果を表 4 に示した。トルエン+NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物の対照として用いられた清浄空気暴露による SCE 頻度は細胞当たり 6.40 から 8.28 の範囲にあった。一方、最低実験濃度のトルエン 2.0ppm : NO<sub>2</sub> 0.25ppm の初期反応濃度の試料ガスの SCE 頻度は細胞当たり 13.56 及び 15.40 であり、対照の 1.6 倍及び 1.9 倍を示し、さらに最高実験濃度のトルエン 16.0ppm : NO<sub>2</sub> 2.0ppm の初期反応濃度の試料ガスの SCE 頻度は、1 実験例では細胞当たり 24.68 を示し、対照の 3.6 倍を示したが、もう 1 例では細胞毒性が強いため観察した標本中に分裂中期の核板像がみられず SCE の検索はできなかった。実験が試みられた濃度の試料ガスはすべて SCE 頻度の有意な増加がみられたが、濃度に依存した明りょうな量—反応の関係は得られなかった。これに対し増殖抑制は表 3 にみるように濃度に



表 3 V79 細胞の姉妹染色体交換と増殖抑制に及ぼすプロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物の影響

Table 3 The effects of *in vitro* exposure to the photochemical reaction products of propylene plus NO<sub>2</sub> on sister chromatid exchanges and growth inhibition of V79 cells

Concentration (ppm)	Experiment	Frequency of SCEs (mean ± SE)/cell		Growth inhibition (%)
		Control gas	Sample gas <sup>a</sup>	
Propylene : NO <sub>2</sub>				
0.50 : 0.25	1	6.64 ± 0.25	14.32 ± 0.80	8
	2	7.04 ± 0.35	14.04 ± 0.75	6 } 7
1.0 : 0.50	1	7.00 ± 0.48	18.64 ± 0.89	21
	2	6.48 ± 0.36	17.76 ± 0.61	22 } 22
2.0 : 1.0	1	6.68 ± 0.30	16.96 ± 0.49	45
	2	7.20 ± 0.33	17.24 ± 0.74	43 } 44
3.0 : 1.5	1	6.88 ± 0.40	26.32 ± 0.15	52
	2	6.60 ± 0.39	26.04 ± 1.04	56 } 54

<sup>a</sup> Significantly different at all concentrations at p<0.001, Student's t-test, compared with corresponding control value (n=25).

表 4 V79 細胞の姉妹染色分体交換と増殖抑制に及ぼすトルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物の影響

Table 4 The effects of *in vitro* exposure to the photochemical reaction products of toluene plus NO<sub>2</sub> on sister chromatid exchanges and growth inhibition of V79 cells

Concentration (ppm)	Experiment	Frequency of SCEs (mean ± SE)/cell		Growth inhibition (%)
		Control gas	Sample gas <sup>a</sup>	
Toluene : NO <sub>2</sub>				
2.0 : 0.25	1	8.60 ± 0.49	13.56 ± 1.22	16
	2	8.12 ± 0.50	15.40 ± 0.69	22 } 19
4.0 : 0.50	1	8.28 ± 0.60	13.20 ± 0.60	25
	2	7.00 ± 0.56	11.68 ± 0.97	23 } 24
8.0 : 1.0	1	6.40 ± 0.48	16.04 ± 0.96	44
	2	6.68 ± 0.51	16.28 ± 0.95	51 } 48
12.0 : 1.5	1	6.70 ± 0.37	23.56 ± 1.92	67
	2	7.20 ± 0.42	23.60 ± 1.89	66 } 67
16.0 : 2.0	1	7.04 ± 0.46	b	96
	2	6.84 ± 0.43	24.68 ± 1.47	92 } 94

<sup>a</sup> Significantly different at all concentrations at p<0.001, Student's t-test, compared with corresponding control value (n=25).

<sup>b</sup> Mitotic figures were not present in cultures.

依存した作用がみられ、各濃度における平均値は濃度の低い方から、19%、24%、48%、67%、94%を示した。

### 3.3 NO<sub>2</sub>の影響

NO<sub>2</sub>の暴露によるV79細胞のSCE頻度と増殖抑制の結果を表5に示した。NO<sub>2</sub>の対照として用いた清浄空気暴露によるSCE頻度は細胞当たり6.76から7.24の範囲にあった。一方、実験を試みた最低濃度のNO<sub>2</sub> 0.5ppmの暴露では対照に比べてSCE頻度の有意な増加はみられず、1.0ppm以上の暴露濃度でそれぞれ対照に比べてSCE頻度の有意な増加がみられた。最も高いSCE頻度を示したNO<sub>2</sub> 8.0ppmでは対照1.7倍及び1.6倍であった。SCE頻度の増加はNO<sub>2</sub>の濃度に依存した傾向がみられたが、明りょうな量—反応の関係は得られなかった。

増殖抑制はNO<sub>2</sub> 0.5ppmの濃度では抑制作用はみられず1.0ppm以上の濃度で濃度に依存した抑制作用がみられ、1.0ppm以上の各濃度における増殖抑制平均値は4%、11%、32%、57%、85%を示した。

表 5 V79細胞の姉妹染色分体交換と増殖抑制に及ぼすNO<sub>2</sub>の影響  
Table 5 The effects of *in vitro* exposure to NO<sub>2</sub> on sister chromatid exchanges and growth inhibition of V79 cells

Concentration (ppm)	Experiment	Frequency of SCEs (mean ± SE)/cell		Growth inhibition (%)
		Control gas	Sample gas <sup>a</sup>	
0.5	1	7.16 ± 0.37	7.32 ± 0.35	5
	2	7.08 ± 0.28	7.20 ± 0.27	2   2
1.0	1	6.96 ± 0.32	8.40 ± 0.41**	6
	2	6.92 ± 0.29	8.96 ± 0.33***	2   4
2.0	1	7.20 ± 0.39	8.92 ± 0.47**	8
	2	9.76 ± 0.42	8.44 ± 0.54*	14   11
4.0	1	6.84 ± 0.28	11.04 ± 0.59***	35
	2	7.16 ± 0.28	10.04 ± 0.41***	29   32
6.0	1	7.20 ± 0.48	9.64 ± 0.46***	53
	2	7.24 ± 0.32	9.60 ± 0.37***	61   57
8.0	1	7.12 ± 0.39	12.32 ± 0.48***	86
	2	6.92 ± 0.20	11.40 ± 0.37***	84   85

<sup>a</sup> Significant at \*P<0.05, \*\*P0.01, by Student's t-test compared with corresponding control value (n=25).

### 3. 4 O<sub>3</sub>の影響

O<sub>3</sub>の暴露による V79 細胞の SCE 頻度と増殖抑制の結果を表 6 に示した。O<sub>3</sub>の対照として用いた清浄空気暴露による SCE 頻度は細胞当たり6.20から7.88の範囲内にあった。一方、最低実験濃度の O<sub>3</sub> 0.13ppm の SCE 頻度は細胞当たり7.36及び7.96であり、それぞれの対照に比べて両方とも1.2倍の値を示し、さらに最高実験濃度1.0ppm の SCE 頻度は細胞当たり11.52及び11.16であり、対照に比べて両方とも1.5倍の値を示した。O<sub>3</sub>の全実験濃度で SCE 頻度は対照に比べて有意な増加を示し、濃度依存の増加傾向はみられたが、明りょうな量一反応の関係は得られなかった。増殖抑制は O<sub>3</sub>の全実験濃度で濃度に依存した抑制作用がみられ、各濃度における平均値は11%、12%、30%、49%、71%を示した。

表 6 V79 細胞の姉妹染色分体交換と増殖抑制に及ぼす O<sub>3</sub> の影響  
Table 6 The effects of *in vitro* exposure to O<sub>3</sub> on sister chromatid exchanges and growth inhibition of V79 cells

Concentration (ppm)	Experiment	Frequency of SCEs (mean ± SE)/cell		Growth inhibition (%)
		Control gas	Sample gas <sup>a</sup>	
0.13	1	6.20 ± 0.33	7.36 ± 0.39*	5
	2	6.68 ± 0.28	7.96 ± 0.26*	17
0.25	1	7.12 ± 0.38	9.08 ± 0.46**	16
	2	7.84 ± 0.43	9.76 ± 0.48**	8
0.50	1	6.16 ± 0.32	9.40 ± 0.54***	32
	2	6.20 ± 0.45	8.84 ± 0.48***	27
0.75	1	7.76 ± 0.37	10.32 ± 0.47***	51
	2	7.88 ± 0.49	12.12 ± 0.87***	47
1.00	1	7.48 ± 0.53	11.52 ± 0.54***	69
	2	7.32 ± 0.37	11.16 ± 0.86***	73

<sup>a</sup> Significant at \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001, by Student's t-test compared with corresponding control value (n=25).

## 4 考 察

プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物とトルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物の2種類の光化学スモッグ・シミュレートガスは Chinese hamster 由来 V79 の SCE も誘発し、細胞遺伝毒性を持つことが認められた。また光化学スモッグ・シミュレートガスとの比較のために実験が試みられた NO<sub>2</sub> 及び O<sub>3</sub> も SCE を誘発し、細胞遺伝毒性を持つことが認められた。

これまでガス状大気汚染物質の細胞遺伝毒性や変異原性については代表的なガス状大気汚染物質である NO<sub>2</sub> あるいは O<sub>3</sub> に関する報告がほとんどであり、多くの報告は両汚染物質の細胞遺伝毒性

あるいは変異原性があることを認めている<sup>5-8,16)</sup>。一方、光化学スモッグに関しては、我々の知る限りではトルエンと NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物の混合ガスについて微生物 (*Salmonella typhimurium*) での変異原性試験が試みられ、変異原性のあることが最近になり報告された程度である<sup>17)</sup>。

環境変異原物質を論ずる場合、環境中での存在量及び存在状態はもちろん、特に変異原活性の有無だけではなく、どの程度の強さであるかを知ることが重要となってくる。光化学スモッグ・シミュレートガスの細胞遺伝毒性が他のガス状大気汚染物質と比べてどの程度に位置づけられるかが問題となってくるが、光化学スモッグ・シミュレートガスは様々な光化学反応生成物の混合ガスであるために NO<sub>2</sub> 及び O<sub>3</sub> など単一のガス状汚染物質と濃度レベルで単純に比較検討することは難しいと思われる。そこで我々は光化学スモッグ・シミュレートガスについては、通常、光化学スモッグの指標として用いられている光化学オキシダント濃度を代表として比較検討を試みた。いわゆる光化学オキシダントは大気中の炭化水素と NO<sub>2</sub> から光化学的に生成する酸化性物質の総称であるが、本実験で作成された光化学スモッグ・シミュレートガスでは O<sub>3</sub> 及び PAN が光化学オキシダントの主体をなすことから O<sub>3</sub> 濃度と PAN 濃度の和を光化学オキシダント濃度として表した。

プロピレン+NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物ではプロピレン : NO<sub>2</sub> の初期反応濃度が 0.5ppm : 0.25ppm のとき、光化学オキシダント濃度は 0.13ppm を示し、さらに初期反応濃度が高くなるにつれて 0.28ppm (プロピレン : NO<sub>2</sub> = 1.0ppm : 0.5ppm), 0.55ppm (2.0ppm : 1.0ppm), 0.79ppm (3.0ppm : 1.5ppm) と高い濃度を示した。また、トルエン+NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物ではトルエン : NO<sub>2</sub> の初期反応濃度が 2.0ppm : 0.25ppm のとき光化学オキシダント濃度は 0.07ppm を示し、初期反応濃度の増加に従って、0.10ppm (トルエン : NO<sub>2</sub> = 4.0ppm : 0.50ppm), 0.22ppm (8.0ppm : 1.0ppm), 0.24ppm (12ppm : 1.5ppm), 0.29ppm (16ppm : 2.0ppm) の濃度であった。プロピレン+NO<sub>2</sub> 光化学反応生成物の光化学オキシダント濃度は初期反応濃度の増加率に比較的依存した生成量を示したが、トルエン+NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物は、初期反応濃度が高くなるにつれて生成率がにぶくなる傾向がみられた。光化学オキシダント以外の生成物では、プロピレン+NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物のホルムアルデヒドは初期反応濃度にほぼ比例した生成率を示したが、トルエン+NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物のホルムアルデヒドなどアルデヒド基を持つ化合物は初期反応濃度の高いレベルでは生成率がにぶくなる傾向がみられた。

光化学オキシダント濃度を代表濃度とした 2 種類の光化学スモッグ・シミュレートガスと単一のガス状大気汚染物質の NO<sub>2</sub> 及び O<sub>3</sub> の増殖抑制及び誘発 SCE 頻度を濃度で比較したのが図 4 である。

細胞毒性の指標である増殖抑制作用は NO<sub>2</sub> が最も弱く、O<sub>3</sub>、プロピレン+NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物、トルエン+NO<sub>2</sub> の光化学反応生成物の順に強くなることが示された。これまでの NO<sub>2</sub> と O<sub>3</sub> の培養細胞での細胞毒性を比較した報告としては磯村ら<sup>16)</sup>が、Chinese hamster 由来の細胞に 10 分間暴露してコロニー形成率を調べた報告があり、NO<sub>2</sub> と O<sub>3</sub> はほぼ同程度であることを報告している。しかしながら本実験では O<sub>3</sub> は NO<sub>2</sub> に比べて濃度比で約 10 培程度細胞毒性が強いことが示され

た。一方、実験動物を用いた実験では  $O_3$  の毒性は  $NO_2$  の数倍から10倍ぐらい強いことが指摘されており、Roehmら<sup>18)</sup>は  $O_3$  と  $NO_2$  では同じ ppm 濃度の場合、 $O_3$  による酸化が  $NO_2$  よりも早く起こり、酸化力の差が動物暴露実験における  $NO_2$  よりも強い  $O_3$  の毒性の原因であろうと推測している。我々の培養細胞を用いた *in vitro* の実験の結果は動物を用いた *in vivo* の実験に比較的類似すること

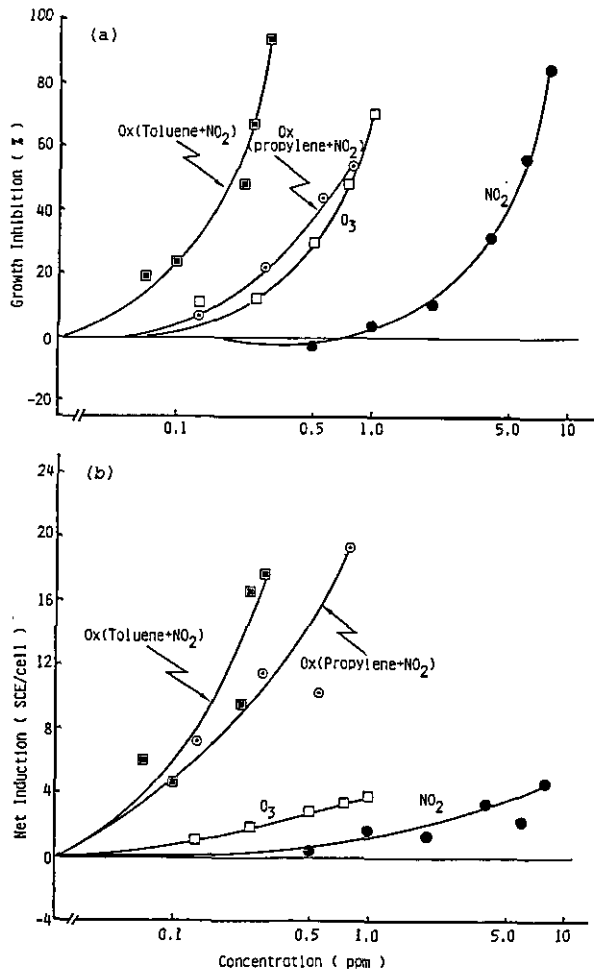


図 4 2種類的光化学スモッグ・シミュレートガス、 $NO_2$ 、 $O_3$ によるV79の細胞の増殖抑制及び誘発SCEの比較：(a)増殖抑制，(b)誘発SCE

Fig. 4 The comparison of growth inhibition and induced-SCEs of two kinds of photochemical smog-simulation gases,  $NO_2$ , and  $O_3$  on Chinese hamster V79 cells: (a) growth inhibition, (b) induced-SCEs

Ox (propylene +  $NO_2$ ): photochemical oxidants contained within the photochemical reactant products of propylene plus  $NO_2$ , Ox (toluene +  $NO_2$ ): photochemical oxidants contained within the photochemical reaction products of toluene plus  $NO_2$

が指摘され、我々の採用した *in vitro* の実験系は酸化力の強いガス状大気汚染物質の生物学的影響を検索するのに適していることが示唆された。

光化学スモッグ・シミュレートガスの細胞毒性は、トルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物ではO<sub>3</sub>及びプロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物よりわずかに強いことが示された。プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物とトルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物の細胞毒性の差は、光化学オキシダント以外の生成物の作用によるものと考えられる。

細胞遺伝毒性については、試料ガスの細胞当たりの SCE 頻度から対照の SCE 頻度を差し引いた正味の誘発 SCE 頻度により、4 種類の試料ガスの比較を試みた。NO<sub>2</sub> は実験濃度範囲内の 1.0ppm から 8.0ppm において SCE 頻度の有意な増加が認められ、SCE を誘発することが示されたが、最も高い SCE の誘発でも対照の約 1.7 倍程度であり、また O<sub>3</sub> は実験濃度範囲の 0.13ppm から 1.0ppm で SCE 頻度の有意な増加が認められ、SCE を誘発することが示されたが、最も高い SCE の誘発は対照の約 1.5 倍程度であった。両者を濃度で比較すると O<sub>3</sub> は NO<sub>2</sub> より約 10 倍程度細胞遺伝毒性が強いと言えるであろう。これまで NO<sub>2</sub> 及び O<sub>3</sub> の細胞遺伝毒性を培養細胞の SCE の誘発により調べた報告としては、Tsuda ら<sup>8)</sup> が V79 細胞に NO<sub>2</sub> の 5 ppm から 100ppm の 5 段階の濃度について 10 分間の暴露を行い、濃度に依存した SCE の誘発を認めており、最高実験濃度の 100ppm では SCE の誘発は対照の 2.5 倍であることを報告している。O<sub>3</sub> については Guerrero ら<sup>7)</sup> がヒト由来 W1-38 細胞に 0.25ppm から 1.0ppm の 4 段階の濃度について 1 時間の暴露を行い、濃度に依存した SCE の誘発を認めており、最も高い SCE 誘発が認められた 1.0ppm の SCE 頻度は対照の約 2.1 倍である。我々の実験系と Tsuda ら<sup>8)</sup> 及び Guerrero ら<sup>7)</sup> の実験系とは暴露方式、暴露時間、あるいは培養細胞の違いが認められるが、*in vitro* の実験系での NO<sub>2</sub> 及び O<sub>3</sub> の細胞遺伝毒性は、細胞毒性と深く関係するものと思われる。すなわち、NO<sub>2</sub> も O<sub>3</sub> も細胞毒性のために高濃度では細胞の分裂像が観察できず、SCE の検索可能な濃度では SCE 誘発は対照の 2 倍程度にとどまることが推察され、NO<sub>2</sub> も O<sub>3</sub> も細胞遺伝毒性は弱い化合物に分類されるものと思われる。

プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物及びトルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物は両者とも、光化学オキシダント濃度に依存して誘発 SCE 頻度が高くなる傾向が認められ、プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物では光化学オキシダント濃度が 0.79ppm の最高値のとき、SCE 頻度は対照の 3.9 倍を示し、またトルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物では光化学オキシダント濃度が 0.29ppm の最高値のとき、SCE 頻度は対照の 3.6 倍を示した。これら光化学スモッグ・シミュレートガスは SCE 頻度の増加率だけで O<sub>3</sub> や NO<sub>2</sub> と比較した場合でも数倍高く、明らかに強い細胞遺伝毒性を持つことが認められた。2 種類の光化学スモッグ・シミュレートガスの細胞遺伝毒性の強さを光化学オキシダント濃度で比較すると、トルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物の方が強いことが認められる。しかしながら、プロピレン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物は誘発 SCE 頻度に比べて増殖抑制作用が弱く、両者の細胞遺伝毒性の強さを細胞毒性をも考慮して総合的に判断すると顕著な差は認められないと思われる。

今回実験に供された光化学スモッグ・シミュレートガスには、その生物学的影響が強いと考えられている光化学オキシダント以外にホルムアルデヒドのようなアルデヒド基をもつ化合物が多数含まれており、それらの生物学的影響も注目する必要がある。特にホルムアルデヒドの濃度は両方とも光化学オキシダント濃度より高く、光化学二次反応生成物の主たる化合物と言える。ホルムアルデヒドはメチルアルコールの酸化物であるが、これまでも合成樹脂を使った家具などからの室内汚染、タバコの煙中成分などとしてその細胞遺伝毒性や変異原性が注目されており、弱い変異原物質とし分類されている<sup>19)</sup>。Obeら<sup>20)</sup>は培養細胞にホルムアルデヒドとアセトアルデヒドを水溶液の状態に曝露し、SCEを誘発することを報告している。当然、光化学スモッグ・シミュレートガスに含まれるホルムアルデヒドは光化学スモッグ・シミュレートガスの細胞遺伝毒性の活性に深く関与していることが容易に推察される。しかしながら、これまでホルムアルデヒドを初めとするベンズアルデヒド、アセトアルデヒド、グリオキザール、メチルグリオキザールなどアルデヒド基を持つ化合物のガス状での細胞遺伝毒性は検索されておらず、どの程度光化学スモッグ・シミュレートガスの細胞遺伝毒性に寄与しているかは明らかでない。ホルムアルデヒドは他の変異原性物質(X線、紫外線、過酸化水素)と作用し合うことが示されておりこれらの物質と一緒に作用させた場合、突然変異の頻度が2倍以上となることも報告されている<sup>19)</sup>。ホルムアルデヒドと同様のアルデヒド基を持つ化合物が、O<sub>3</sub>など光化学オキシダントと共存した場合にどのような複合作用を引き起こすかは今後検討する重要な課題と思われる。一方、トルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物を構成する成分は、光化学スモッグチャンバーに組み込まれたFT-IRで分析されたが、トルエンとNO<sub>2</sub>の光化学反応生成物として報告されている<sup>21)</sup>ニトロトルエン、クレゾールなどはほとんどこの分析システムでは測定されなかった。これらの物質は光化学スモッグ・シミュレートガス中ではガス状ではなく粒子状で存在することが予想され、FT-IRでは分析できなかったと推察されるが、これらトルエン+NO<sub>2</sub>の光化学反応生成物については未分析の物質も含めて未知の生成物による生物学的影響も考慮する必要があると思われる。

いずれにしても本報告で興味ある重要な事実は、NO<sub>2</sub>のような細胞遺伝毒性の比較的弱い反応物、あるいはプロピレンやトルエンのように100ppm以下の濃度では細胞遺伝毒性の認められなかった反応物から光化学反応により、反応物よりはるかに強い細胞遺伝毒性を示す光化学反応生成物の混合ガスが生成されることである。そしてこれは、大気中の光化学二次汚染物質、いわゆる光化学スモッグが人体に対して細胞遺伝的影響を引き起こす可能性を示唆するものである。

## 謝 辞

SCEの観察に伴う技術的指導をいただいた東京大学医学部公衆衛生学教室 森本兼襄助教授、並びに光化学スモッグ・シミュレートガス作成に当たり、御助言をいただいた国立公害研究所大気環境部・大気化学研究室 秋元 肇室長に深く感謝いたします。

## 引用文献

- 1) 厚生省 (1981): 人口動態統計 (厚生統計協会 (1983): 国民衛生の動向. 厚生 の指標, 30 (特集号) から引用).
- 2) Carnow, B. W. and P. Meier (1973): Air pollution and pulmonary cancer. Arch. Environ. Health, **27**, 207-218.
- 3) Tokiwa, H., S. Kitamori, K. Takahashi and Y. Ohnishi (1980): Mutagenic and chemical assay of extracts of airborne particulates. Mutat. Res., **77**, 99-108.
- 4) 後藤純雄・加藤幸彦・折井章子・田中一幸・久松由東・松下秀鶴 (1982): 大気浮遊粉じんの変異原性の経日変動. 大気汚染学会誌, **17**, 295-303.
- 5) Fetner, R. H. (1962): Ozone-induced chromosome breakage in human cell cultures. Nature (London), **194**, 793-794.
- 6) Gooch, P. C., D. A. Creasia and J. G. Brewen (1976): The cytogenetic effects of ozone: Inhalation and *in vitro* exposure. Environ. Res., **12**, 188-195.
- 7) Guerrero, R. R., D. E. Rounds, R. S. Olson, and J. D. Hanckney (1979): Mutagenic effects of ozone on human cells exposed *in vivo* and *in vitro* based on sister chromatid exchange analysis. Environ. Res., **18**, 336-346.
- 8) Tsuda, H., A. Kushi, D. Yoshida and F. Goto (1981): Chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges induced by gaseous nitrogen dioxide in cultured Chinese hamster cells. Mutat. Res., **89**, 303-309.
- 9) 三上理一郎・工藤翔二 (1973): わが国におけるいわゆる光化学スモッグによる急性傷害. 日本臨床, **31**, 2039-2047.
- 10) 牧野国義・溝口 勲 (1975): 光化学スモッグによる自覚症調査について. 日本公衆衛生学会誌, **22**, 421-430.
- 11) Akimoto, H., H. Bandow, F. Sakamaki, G. Inoue, M. Hoshiino and M. Okuda (1980): Photooxidation of the propylene-NO<sub>x</sub>/air system studied by long-path Fourier transform infrared spectrometry. Environ. Sci. Technol., **14**, 172-179.
- 12) 近本武次・迫田吉之助 (1977): 大気中の芳香族炭化水素. 大気汚染研究, **12**, 5-17.
- 13) Häsänen, E., V. Karlsson, E. Läppämäki and M. Jahla. (1981): Benzene, toluene and xylene concentrations in car exhausts in city air. Atmos. Environ., **15**, 1755-1757.
- 14) 小泉 明・森本兼麿編 (1985): SCE -姉妹染色分体交換と環境科学-. サンエンスフォーラム, 東京.
- 15) Goto, K., S. Maeda, Y. Kano and T. Sugiyama. (1978): Factors involved in differential Giemsa-staining of sister chromatid. Chromosoma, **66**, 351-359.
- 16) 磯村公郎・深瀬 治・渡辺 弘 (1976): ガス状大気汚染物の細胞毒性と突然変異能. 大気汚染研究, **11**, 1-6.
- 17) Shepson, P. B., T. E. Kleindienst, E. O. Edney, G. R. Namie and J. H. Pittman (1985): The mutagenic activity of irradiated toluene/NO<sub>x</sub>/H<sub>2</sub>O/air mixtures. Environ. Sci. Technol., **19**, 249-255.
- 18) Roehm, J. N., J. G. Hadey and D. B. Menzel (1971): Oxidation of unsaturated fatty acids by ozone and nitrogen dioxide. Arch. Environ. Health, **23**, 142-148.



- 19) 日本科学技術情報センター (1983) : ホルムアルデヒドに関する文献レビュー. 昭和57年度環境庁委託調査結果報告書.
- 20) Obe, G. and H. Ristow (1979): Mutagenic, cancerogenic and teratogenic effects of alcohol. *Mutat. Res.*, **3**, 299-302.
- 21) Hoshino, M., H. Akimoto and M. Okuda (1978): Photochemical oxidation of benzene, toluene, and ethylbenzene initiated by OH radicals in the gas phase. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 718-724.

### Ⅲ-4 動物暴露用フロータイプ光化学チャンバーの製作 と予備的研究

#### Availability of "Flow-Type" Photochemical Chamber as an Exposure System for Small Animals

鈴木 明<sup>1</sup>・局 博一<sup>1</sup>

Akira K. SUZUKI<sup>1</sup> and Hirokazu TSUBONE<sup>1</sup>

#### 要 旨

光化学反応二次生成物の生体影響を実験的に調べる必要性から、光化学反応チャンバーとそれに付随する動物暴露チャンバーの製作を行った。光化学反応チャンバーは直列に連結した4本の硬質ガラス管[パイレックス管, 200mm(d)×1200mm(l)]から構成された。上記ガラス管の周囲には、紫外線を照射するためのブラックライトランプ(40w)を合計16本並べた。光化学反応チャンバー中で生成されたガスの一部は、デシケーター(気積10 l)とアクリル樹脂製の動物収納用円筒セルから成る動物暴露チャンバーに導入された。

プロピレン(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>)と二酸化窒素(NO<sub>2</sub>)がそれぞれ3 ppmと1 ppmになるように混合したガスを連続的に流し、紫外線を照射すると4本のパイレックス管のうち最後尾4本目のパイレックス管では、光化学反応が十分に進行することが示され、かつオゾン(O<sub>3</sub>)濃度も安定した結果が得られた。この4番目のパイレックス管では紫外線照射90分以降でO<sub>3</sub>濃度は0.52ppmを持続して維持した。このようにして生成された光化学反応二次生成物をラットに2時間まで暴露した場合、呼吸数や心拍数に変化が認められたが、それらはO<sub>3</sub>ないしNO<sub>2</sub>の単独暴露による変化とは様相が異っていた。また、光化学二次反応生成物として量的に多く生成されることが知られているホルムアルデヒド(HCHO)を1 ppmの濃度でラットの眼に暴露したときの刺激作用も検討したところ、強い粘膜刺激性のあることが示された。

以上の成績から、今回製作したフロータイプの光化学反応チャンバーと動物暴露チャンバーを用いることにより、光化学二次生成物の生体影響を実験室内で比較的簡便に追求することが可能となった。

#### Abstract

A "flow-type" chamber was made to examine the biological effects of photochemical

---

1. 国立公害研究所 環境生理部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2  
Basic Medical Sciences Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba,  
Ibaraki 305, Japan.

secondary products on experimental animals. This chamber was made of four pieces of solid glass-tubes [Pyrex-tube, 200mm (d) × 1200mm (l)] which were tightly lined up each other. Ultraviolet irradiation was performed by sixteen black light lamps surrounding the glass-tubes.

Mixed gas consisted of 3 ppm-propylene ( $C_3H_6$ ) and 1 ppm-nitrogen dioxide ( $NO_2$ ) was continuously supplied to the glass-tubes during ultraviolet irradiation. After ninety minutes of irradiation, ozone ( $O_3$ ) concentration reached a stable level (0.52ppm). When such photochemical secondary products were exposed to six rats, respiratory rate (RR) and heart rate (HR) of the rats varied markedly. Furthermore, the time course of RR and HR differed from those of animals exposed to  $NO_2$  or  $O_3$  alone. In another experiment, an increase in activity of lacrimal nerves was observed during exposure to 1 ppm formaldehyde (HCHO), indicating that eye irritation could be caused by this gas.

From these results, it is concluded that the present "flow-type" chamber is useful for experiments determining the biological effects of photochemical secondary products.

## 1 はじめに

大気汚染がヒトの健康にとって好ましくないものであることは周知のとおりである。大気汚染は都市化、あるいは高度な産業化及びモータリゼーションによるものであり、その発生は人口密度に関連するといわれている。そして、大気汚染は多種類のガス状物質やエアロゾルなどから形成されているが、このうちとくにオゾン ( $O_3$ )、PAN (パーオキシアセチルナイトレート) 及び各種アルデヒド類は滞留大気中の窒素酸化物と炭化水素の存在下で紫外線と反応して生じるもので、いわゆる光化学反応二次生成物質と言われている。これらの物質の生成過程に関しては Haagen-Smit<sup>1)</sup>、Richards<sup>2)</sup>、Stephens ら<sup>3,4)</sup>によって詳しく報告されている。

一方、いわゆる光化学スモッグによる健康被害についても国内外の各方面から報告されている。この光化学スモッグによる自覚症状は多種類に及ぶが、特に眼の刺激は重要な症状の一つである。このように眼刺激症状は Hamming と Macphee<sup>5)</sup>、Heuss と Glasson<sup>6)</sup> 及び Sapse ら<sup>7)</sup>によって、主としてホルムアルデヒド、アクロレイン、PAN によるものであることが報告されている。一方、二次反応生成物質の主たるものはオキシダントと考えられ、代表的物質として  $O_3$  が注目されている。 $O_3$  のヒト及び動物への影響に関する研究は呼吸器を中心に数多くなされている。近年、NRC<sup>8)</sup>、鈴木<sup>9)</sup>、Menzel ら<sup>10)</sup>によって  $O_3$  あるいはオキシダントの健康影響が総説されており、これらの記述を参考にして健康への主な影響をまとめると、① 眼、鼻、のどの刺激感といった自覚症状、② 咳などの他覚症状、③ 呼吸困難、④ 肺換気能障害、⑤ 酸素摂取及び酸素消費量の変化、⑥ 病理形態学的変化となる。しかし、これらの知見の多くは、ヒトあるいは動物に対する  $O_3$  の暴露ないしは疫学調査の結果に基づいており、実験的に光化学反応物質を生成し、その生成物質を同定しながらその生体影響について検討した報告は少ないと言わざるを得ない。したがって、上述した症状と光化学反応物質との関係について不明な点が多い。その最大の理由は安定した状態で光化学反応物質を生成し、動物を暴露する性能のよい装置がまだ開発されていないことによると思われる。

そこで本研究の一環として、光化学二次生成物質を動物に暴露し、その生体影響を検索しうるフロータイプの光化学チャンバーの製作を試みたので、その概要と若干の動物暴露実験の結果について報告する。

## 2 フロータイプ光化学チャンバーの製作

動物実験用の光化学チャンバーの製作にあたり次のような条件を満足することが必要とされる。

(1) 連続的に動物暴露部に光化学二次生成物質を供給するためにフロータイプであること、(2) 光化学反応物質が安定した状態で生成できること、(3) 小型動物暴露チャンバー（頭部暴露でラット6匹分が一度に暴露できる大きさ）を接続でき、このとき動物暴露チャンバー内の換気回数が毎時12回以上になるように流量を保持できること、(4) 試料ガス暴露を受けている動物から生理学的変化を任意に促えられることである。

以上の条件を満たすように設計した基本構成図を図1に示した。この図に示すように本システムは五つの基本的ブロック(①～⑤)から構成されている。その概要を以下に記述する。

①ガス希釈部：光化学反応に必要な基本ガスを設定濃度に希釈、混合して、一定流量で次の光化学反応チャンバーへガスを供給する部分である。空気ラインには純酸素と室内空気の2種類を供給する系統を用意したが、室内空気を使う場合には空気中の炭化水素を除去するために白金触媒装置

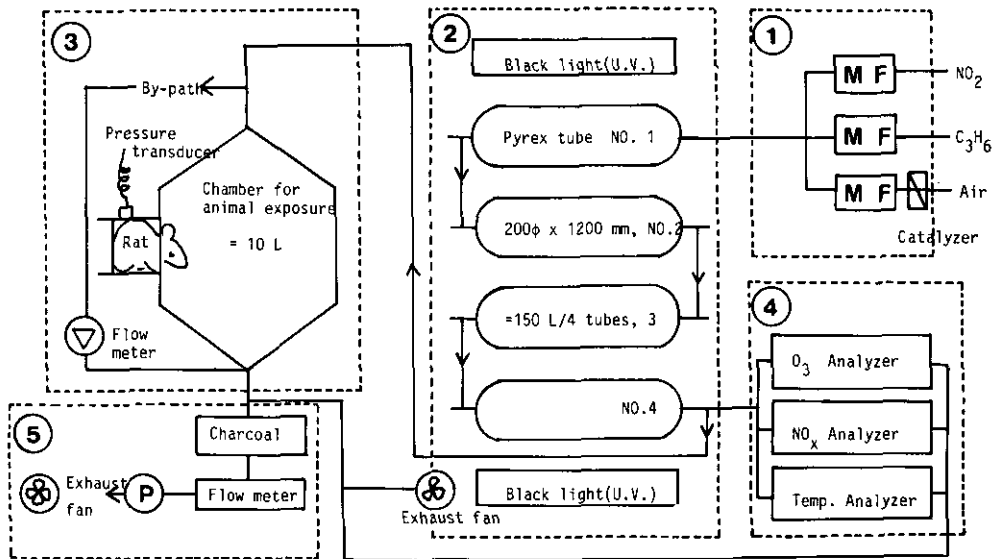


図 1 光化学反応実験装置の基本構成図

Fig. 1 A block-diagram of an apparatus served for experiments on photochemical reaction

1. gas-mixer (gas-diluter), 2. photochemical box,
3. exposure system, 4. gas-monitor system, 5. gas-exhaust system.

を取り付けた。また、空気と2種類のガスを設定濃度で混合し供給するために、MFC(マスフローコントローラー)内蔵自動較正ガス発生装置(日本イー・エム・シー, SDL-17, Option-H)を使用した。

②光化学反応チャンバー部:200mm(d)×1200mm(l)のパイレックス管(気積37.5 l)を2本ずつ上下2段に計4本を並べ光化学反応チャンバーとした。各パイレックス管は直列に接続されており、混合ガスを1本目のパイレックス管から供給する。4本のパイレックス管の全体に混合ガスがゆきわたった後、周囲のブラックライト(40W/1本)を点燈し、光化学反応を起こさせる。各パイレックス管の両端にはテフロン製の三方コックを設け、その一端をO<sub>3</sub>やNO<sub>2</sub>等の測定器に接続することによって各パイレックス管内の反応生成物の濃度を知ることができるようにした。上述のブラックライトは一壁面当たり4本ずつ計16本を取り付け、パイレックス管を4面から同時に照射できるようにした。また、反应用パイレックスチャンバー収容箱の内壁とブラックライトとの間に薄層アルミ箔を貼りつめ、光が効率良くパイレックス管を照射するようにした。ブラックライトは電源コントロール盤と接続され、スイッチ操作によって2本から16本までの可変照射ができるようにした。またブラックライトの点燈により反応チャンバー及びその周囲の温度が上昇し、光化学反応を修飾することも考えられるので、排気用換気ファンを常時運転させ、反応チャンバーを冷却するようにした。

③動物暴露部:ラット6匹分の頭部暴露ができ、呼吸数、心拍数、心電図等を測定できるようにした。動物暴露部の本体部分は気積約10 lのデシケーターを利用し、上方から下方に向けて反応ガスが流れるようにした。基本ガス供給量、O<sub>3</sub>濃度測定器及びNO<sub>x</sub>濃度測定器等のサンプリングガス量を計算すると、動物暴露チャンバーに安定して供給できる試料ガス量は2~4 l/minであった。動物は一匹ずつアクリル樹脂製円筒セルに収容され、動物の頸部をテフロンカラーと、シリコンカラーで2重に巻き、反応生成ガスがチャンバー本体から外へ漏れないように工夫した。またこの円筒セルには各種の径をもつ側管を取り付け、心電図導出のためのコードや、呼吸曲線記録のための圧力トランスジューサーを接続できるようにした。

④濃度測定部:光化学反応の進行指標となるO<sub>3</sub>、光化学反応の過程で消費されるNO<sub>x</sub>の濃度をそれぞれ測定した。測定装置はケミルミネッセンス方式の窒素酸化物測定装置(Monitor Labs. 8440-L)とO<sub>3</sub>測定器(日本イー・エム・シー, SDL-25)を使用した。

⑤排気浄化系:動物暴露チャンバー、各種測定器からの排気ガス及び光化学反応部周囲の冷却空気を活性炭で一次処理し、排気ファン2基で、実験室外の排気浄化管に誘導した。

### 3 フロータイプ光化学チャンバーの運転試験結果

紫外線照射による光化学チャンバー内の反応状態を検索した。まず、光照射に先立って24時間以上、5 l/minの割合で空気だけを流し、チャンバー内を浄化した。チャンバー内のO<sub>3</sub>及びNO<sub>x</sub>が検出されないことを確認した後、プロピレン(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>)と二酸化窒素(NO<sub>2</sub>)がそれぞれ3 ppmと1 ppm

になるように希釈混合したガスを、パイレックス製光化学反応チャンバーへ供給し、各パイレックス管内の $O_3$ と $NO_x$ の濃度を連続的にモニターした。 $NO_x$ が1 ppmで安定した時点で、16本のブラックライトを全部点燈した。1番目から4番目までの各パイレックス管内の $O_3$ と $NO_x$ 濃度の経時変化を、それぞれ図2～5に示した。図2に示すように、1番目では $NO_x$ は0.83ppmに、 $O_3$ は0.47ppmの濃度レベルで安定し、比較的弱い光化学反応が起こっていることが示された。図3～5はそれぞれ2番目、3番目及び4番目のパイレックス管内の $O_3$ と $NO_x$ 濃度の経時変化を示しており、 $O_3$ 濃度の増加と $NO_x$ 濃度の減少が明りょうに示されている。光照射後初期段階での $O_3$ 濃度は2番目から4番目のパイレックス管の間では特に大きな違いは認められなかったが、 $O_3$ 濃度の安定度は4番目で最も優れていた。この場合、 $O_3$ 濃度は光照射後30～40分後に0.67ppmと最大値を示し、90分以降は0.52ppmの濃度レベルを維持しながら安定した経過をたどった。また、 $NO_x$ 濃度は光照射後40～60分頃に0.53ppmまで低下したが、その後漸増し、3時間を経過すると0.58ppmレベルで安定した(図5)。以上の試験結果から、少なくとも4番目のパイレックス管からは、安定した反応ガス濃度を長時間にわたって取り出すことが可能となった。また、ブラックライト点燈時の温度分布を図6に示した。室温が25°Cのとき、チャンバー周辺部で30.5°C、排気ファン部で30°Cと5～5.5°Cの温度上昇が観察された。しかし、パイレックス管内の温度は、1番目25.7°C、2番目26°C、3番目と4番目は24.5°Cを示し、室温との差は小さかった。

なお、これらの試験は3回繰り返して行われ、いずれも同様の結果が得られたことから、光化学反応の再現性は高いと考えられる。

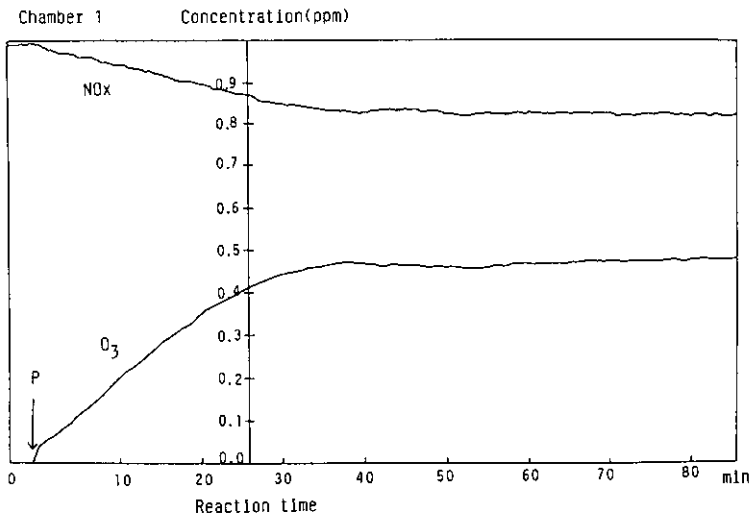


図 2 紫外線照射による $NO_x$ と $O_3$ の濃度変化 (パイレックス管 No. 1).

Fig. 2 Changes in concentration of  $NO_x$  and  $O_3$  in Pyrex glass-tube No. 1

P shows the onset of ultraviolet irradiation.

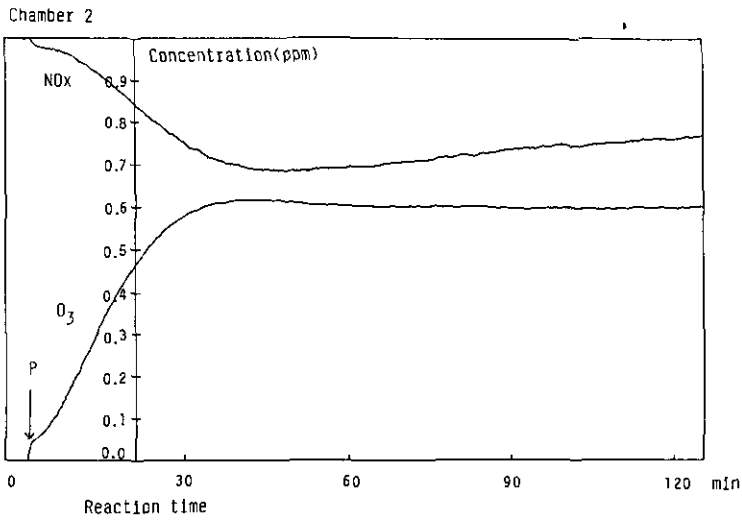


図 3 紫外線照射による NO<sub>x</sub> と O<sub>3</sub> の濃度変化 (パイレックス管 No. 2)  
Fig. 3 Changes in concentration of NO<sub>x</sub> and O<sub>3</sub> in Pyrex glass-tube No. 2

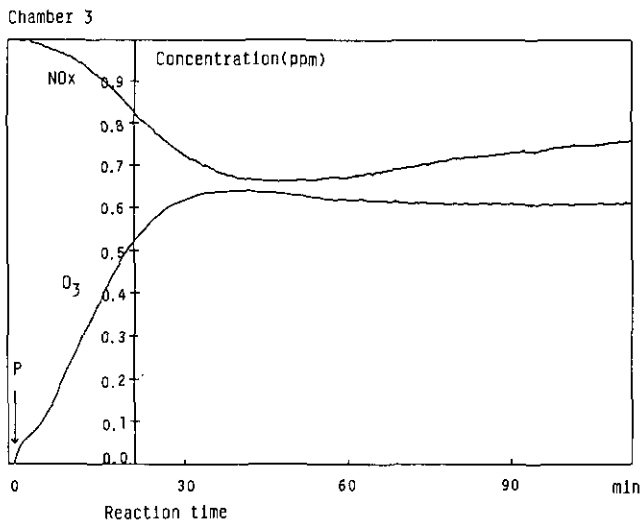


図 4 紫外線照射による NO<sub>x</sub> と O<sub>3</sub> の濃度変化 (パイレックス管 No. 3)  
Fig. 4 Changes in concentration of NO<sub>x</sub> and O<sub>3</sub> in Pyrex glass-tube No. 3

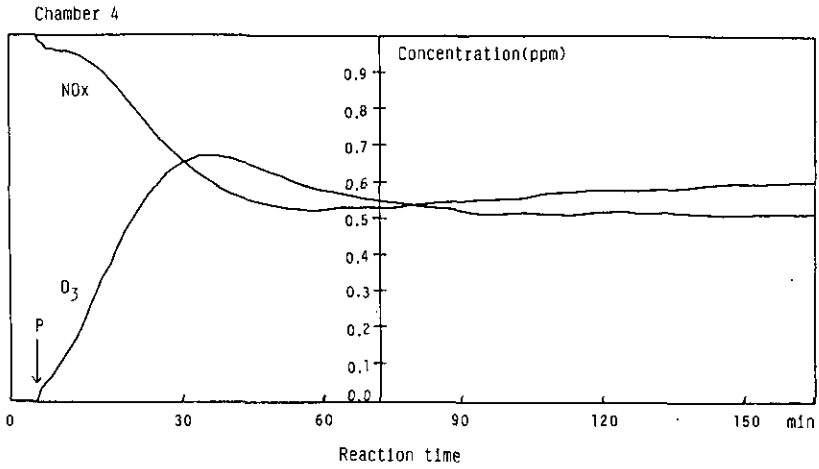


図 5 紫外線照射による NO<sub>x</sub> と O<sub>3</sub> の濃度変化 (パイレックス管 No. 4)  
 Fig. 5 Changes in concentration of NO<sub>x</sub> and O<sub>3</sub> in Pyrex glass-tube No. 4

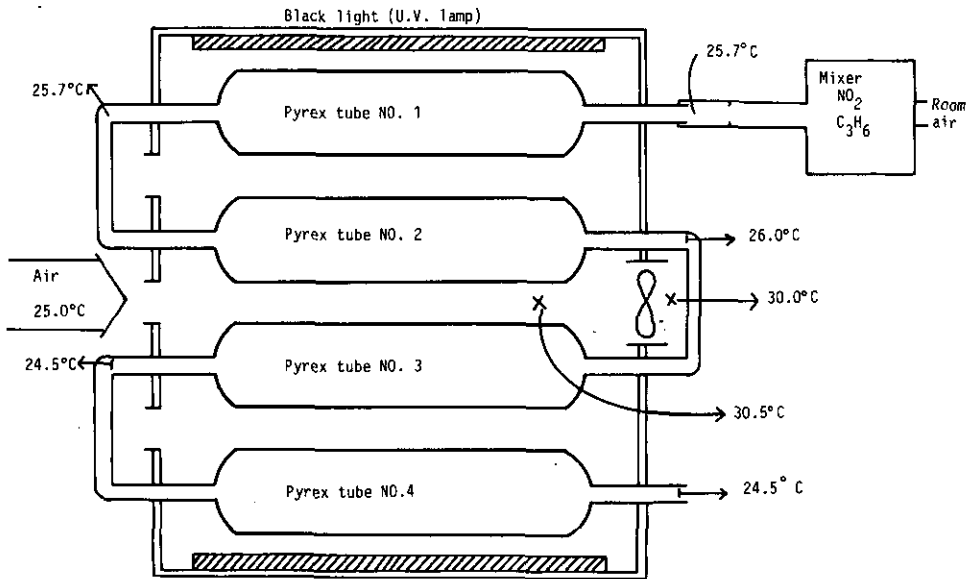


図 6 光化学チャンバー内の温度分布  
 Fig. 6 The distribution of temperature in a series of photochemical reaction system



#### 4 動物暴露実験の結果と考察

前述の光化学反応試験成績に基づいて、4番目のパイレックス管からの光化学反応二次生成物質 ( $O_3$  0.52ppm,  $NO_x$  0.58ppm を含む) を動物暴露チャンバーに導入し、ラットの呼吸数(RR)と心拍数(HR)に及ぼす影響を検討した。ラットは16~17週令のウィスター系雄ラットの合計12匹を用いた。図7に対照ラットと試料ガス暴露ラットの呼吸曲線(PTG)及び心電図(ECG)を示した。対照ラットに比べて試料ガス暴露ラットでは呼吸様式が一定せず、浅表呼吸と深呼吸が混在して現れた。試料ガス暴露を行った12匹のラットのHRとRRの変動範囲を図8に示した。2時間の暴露期間中、RRの変動範囲が極めて大きく、個体差が著しいことが判明した。HRは暴露開始後1時間まで比較的大きな変動を示したが、その後は変動範囲が狭くなった。光化学反応二次生成物質による呼吸数及び心拍数の変化過程は、これまで知られている  $O_3$  あるいは  $NO_2$  の単一暴露の成績とは異なっている。特に呼吸数の変動原因に関しては、 $O_3$  と  $NO_2$  の混合ガスが気道及び眼の粘膜面に及ぼす影響が考えられるとともに、それに加えて各種のアルデヒド類が複雑に作用していることも推測された。

次に、光化学二次生成物質の自覚症状の一つとして確認されている眼刺激反応を神経生理学的に検討した(図9)。ラットの眼及び眼の周辺には多数の知覚神経と運動神経が存在する。このうち三叉神経第1枝、すなわち眼神経(ophthalmic nerve)は前裂口(anterior lacerated foramen)を経て頭蓋を出たのち、眼窩内で涙腺神経(lacrimal nerve)、鼻毛様体神経(nasociliary nerve)及び前頭神経(frontal nerve)の3本に分かれる<sup>11)</sup>。これらの神経はいずれも知覚性であるが、眼窩内には同じく

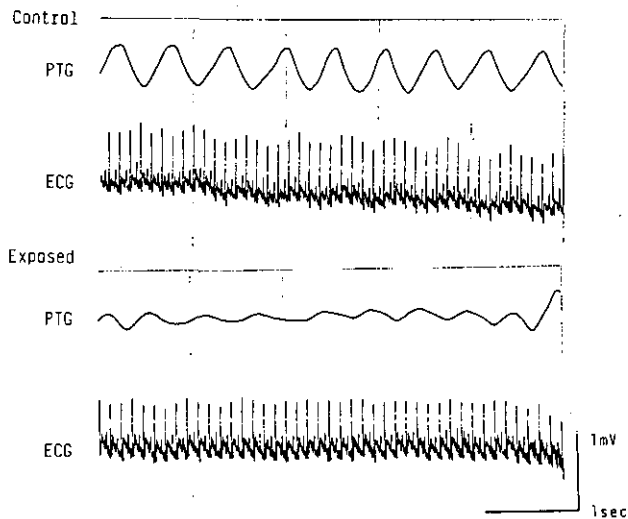


図 7 呼吸運動曲線 (PTG) と心電図 (ECG) の変化  
Fig. 7 Changes in the respiratory movement (PTG) and electrocardiogram (ECG)  
in a rat during exposure to photochemical secondary products

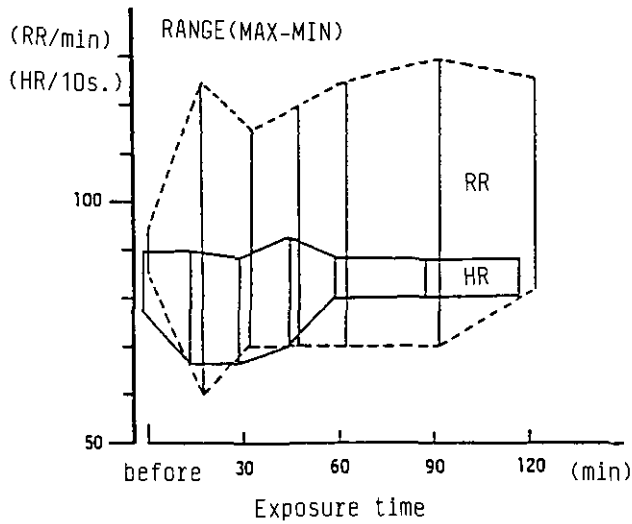


図 8 呼吸数 (破線) と心拍数 (実線) の変動範囲

Fig. 8 The difference between individuals in respiratory rate (RR) and heart rate (HR) in rats during exposure to photochemical secondary products.

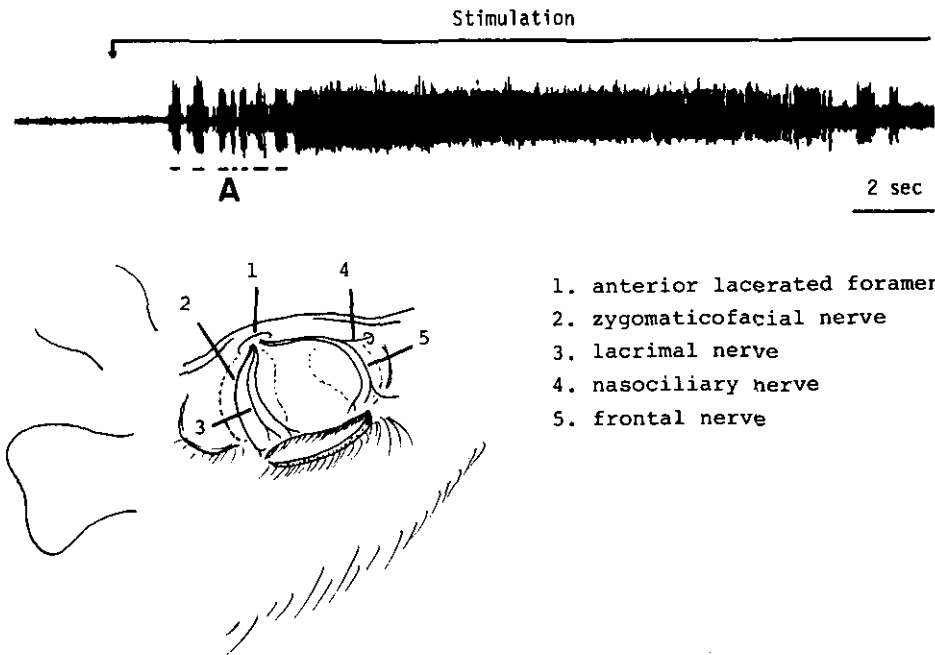


図 9 ホルムアルデヒド (1 ppm) 暴露による涙腺神経の活動増加 (上) とラットの眼周辺における神経支配 (下)

Fig. 9 The increase in lacrimal nerve activity (upper record) by stimulation of 1 ppm-formaldehyde and the innervation around eye ball (lower trace).

三叉神経の枝分かれである頬骨顔面神経 (zygomaticofacial nerve) が存在し、眼瞼結膜の化学的刺激及び眼瞼周囲皮膚の触刺激に应答しうる。著者らは光化学反応二次生成物質の眼刺激作用を検討するために、涙腺神経及び頬骨顔面神経の求心性電気的活動を記録することを試みている。1 ppm のホルムアルデヒドによる眼刺激効果を涙腺神経を例にとりて示した。眼の前方約 5 mm の位置にガラス製の小さな漏斗(外径 7 mm)を固定し、この漏斗を通してホルムアルデヒドまたは室内空気を 50ml/min の流量でゆるやかに吹き付けた。室内空気を吹き付けたときの神経記録は、時折自発性放電が散在するにすぎないが、1 ppm のホルムアルデヒドを吹きつけた場合には、刺激開始後数秒以内に明りょうな放電群が出現した。当初、刺激開始直後に生ずる激しい瞬目反射に対応して、バースト放電の様相を示した(図の破線部、A)が、そののち放電は持続的になり約 10 秒間切れ目なく出現した。続いて、放電は再びバースト状となり、ホルムアルデヒドの刺激が続いても、減弱ないし消失した。この実験記録でみられた電気的活動の増大は涙腺神経の支配領域から考えて、眼球結膜及び眼瞼結膜に対するホルムアルデヒドの強い粘膜刺激作用の結果と推測される。またこのような刺激作用は、涙分泌や瞬目反射、さらには各種の自律神経反射を誘起する原因になるものと考えられる。

眼刺激作用を神経レベルで研究する場合、記録に当てがわれる神経の走行と支配領域が問題となる。角膜に分布して被刺激性の高い長毛様体神経 (long ciliary nerve) の電気生理学的研究はネコ<sup>12)</sup>、カエル<sup>13)</sup>などで試みられているが、長毛様体神経は眼窩底で視神経の近くから眼球表面へと侵入するため、電気生理学的アプローチが容易ではない。この点今回試みた方法はラットの上眼瞼を薄く切皮するだけで神経走行を実体顕微鏡の下に確認できるほか、神経の支配領域も眼刺激と関連性の深い結膜面であるので、光化学二次生成物質の眼刺激作用の強弱あるいは刺激閾値の検討に資することが可能と思われる。

## 5 考 察

光化学反応二次生成物質の生体影響を検索するためには、安定したガス濃度を長時間にわたり供給可能であることが必須の前提となる。この目的のためには、光化学反応を起こすチャンパーは、その性質上、密封型では不可能であり、常に一定流量の基本ガスを流し続けることのできるフロータイプであることが望ましい。

本研究では、このようなフロータイプのチャンパーを実験的に試作し、その性能を試験することを第一の目標とした。プロピレンと NO<sub>2</sub> を 3:1 の割合で混合しチャンパー内に連続して流しながら、紫外線を照射することによって、光化学反応二次生成物質の生成を企てた。光化学反応二次生成物質の代表的物質である O<sub>3</sub> は紫外線照射の直後から出現し、初期段階を除けばかなり安定した濃度レベルを長時間維持した。このことから、O<sub>3</sub> 以外の他の光化学二次生成物質も、照射後一定時間を経過したのちには、それらの濃度の変動は小さくなるものと推測される。しかしながら、光化学二次生成物質の生体影響を正確に評価するためには、O<sub>3</sub> 以外の光化学反応二次生成物質の同定と、

濃度変化に関する詳細な追跡が今後の重要な検討課題となる。また基本ガスの種類や混合比、動物への暴露方式についても、尚多くの検討、改善事項が残されている。今回製作した光化学反応チャンバー及び動物暴露チャンバーを有効に活用することにより、光化学反応二次生成物質の生体影響を調べるための諸研究を実験室内で身近に行うことが可能になったと言える。

## 謝 辞

光化学反応チャンバー製作に当たって貴重な御指導を頂きました元環境生理研究室長の織田 肇先生に心より感謝の意を表します。

## 引 用 文 献

- 1) Haagen-Smit, A. (1956): Atmospheric reactions of air pollutants. *Ind. Eng. Chem.*, **48**, 69-70.
- 2) Richards, L. (1956): Formation of ozone in polluted atmospheres. *J. Air. Pollut. Control Assoc.*, **5**, 216-218.
- 3) Stephens, E. P. Hanst, R. Doerr and W. Scott (1956): Reactions of nitrogen dioxide and organic compounds in air. *Ind. Eng. Chem.*, **48**, 1495-1504.
- 4) Stephens, E., E. Darley, O. Taglor and W. Scott (1961): Photochemical reaction products in the air pollution. *Int. J. Air. Water Pollut.*, **4**, 79-100.
- 5) Hanmming, W. and R. Macphee (1967): Relationship to nitrogen oxides in auto exhaust to eye irritation. *Atmos. Environ.*, **1**, 577-584.
- 6) Heuss, J. and A. Glasson (1968): Hydrocarbon reactivity and eye irritation. *Environ. Sci. Tech.*, **2**, 1109-1116.
- 7) Sapse, J. (1969): Smong eye irritation-effect on air pollution on tear protein pattern. *Ophthalmologica Supple.*, 421.
- 8) NRC (National Research Council) (1977): Ozone and other photochemical oxidants. National Academy Sciences, Washington.
- 9) 鈴木 明 (1983): 大気汚染物質が実験動物に与える影響について (2) —オゾンを中心とした光化学オキシダントの影響について—。トキシコロジーフォーラム, **6**, 633-640.
- 10) Menzel, D. M. (1984): Ozone an overview of its toxicity in man and animals. *J. Toxicol. Environ. Health.*, **13**, 183-204.
- 11) Greene, E. C. (1963): Nervous system anatomy of the rat. Hafner Publishing Company, New York & London, 115-175.
- 12) Lele, P. P. and G. Weddell (1959): Sensory nerves of the cornea and cutaneous sensibility. *Exper. Neurol.*, **1**, 334-359.
- 13) Dawson, W. M. (1962): Chemical stimulation of the peripheral trigeminal nerve. *Nature*, **196**, 341-345.

# 資 料

## 研究成果発表一覧(1978年~1985年)

印刷発表

### (1) 芳香族炭化水素の光酸化反応機構

著 者	題 目	掲 載 誌	巻	ペ ー ジ	発表年
M. Hoshino, H. Akimoto, M. Okuda	Photochemical oxidation of benzene, toluene, and ethylbenzene initiated by OH radicals in the gas phase	Bull. Chem. Soc. Jpn.	51	717-724	1978
H. Akimoto, M. Hoshino, G. Inoue, M. Okuda, N. Washida	Reaction mechanisms of the photooxidation of the toluene-NO <sub>2</sub> -O <sub>2</sub> -N <sub>2</sub> system in the gas phase	Bull. Chem. Soc. Jpn.	51	2496-2502	1978
N. Washida, H. Akimoto, H. Takagi, M. Okuda	Gas chromatography/photoionization mass spectrometry	Anal. Chem.	50	910-915	1978
H. Takagi, N. Washida, H. Akimoto, K. Nagasawa, Y. Usui, M. Okuda	Photooxidation of <i>o</i> -xylene in the NO-H <sub>2</sub> O-air system	J. Phys. Chem.	84	478-483	1980
H. Takagi, N. Washida, H. Akimoto, M. Okuda	Observation of 3-hexene-2, 5-dione in the photooxidation of 1, 2, 4-trimethylbenzene in the NO <sub>2</sub> -H <sub>2</sub> O-air system	Spectrosc. Lett.	15	145-152	1982
H. Bandow, N. Washida, H. Akimoto	Ring-cleavage reactions of aromatic hydrocarbons studied by FT-IR spectroscopy. I. photooxidation of toluene and benzene in the NO <sub>x</sub> -air system	Bull. Chem. Soc. Jpn.	58	2531-2540	1985
H. Bandow, N. Washida	Ring-cleavage reactions of aromatic hydrocarbons studied by FT-IR Spectroscopy. II. Photooxidation of <i>o</i> -, <i>m</i> -, and <i>p</i> -xylenes in the NO <sub>x</sub> -air system	Bull. Chem. Soc. Jpn.	58	2541-2548	1985

著者	題目	掲載誌	巻	ページ	発表年
H. Bandow, N. Washida	Ring-cleavage reactions of aromatic hydrocarbons studied by FT-IR spectroscopy. III. Photooxidation of 1, 2, 3-, 1, 2, 4-, and 1, 3, 5-trimethyl-benzenes in the NO <sub>x</sub> -air system	Bull. Chem. Soc. Jpn.	58	2549-2555	1985

## (2) 光化学二次汚染物質の細胞暴露影響

著者	題目	掲載誌	巻	ページ	発表年
白石 不二雄, 坂東 博, 秋元 盛, 久保田憲太郎, 黒木 登志夫	ガス状光化学反応生成物の培養細胞への新しい暴露方式の検討	大気汚染学会誌	17	386-393	1982
白石 不二雄, 坂東 博	ガス状物質の毒性試験法-培養細胞-	トキシコロジーフォーラム	6	250-257	1983
白石 不二雄	大気汚染物質と SCE	SCE-姉妹染色分体交換と環境科学-(小泉明・森本兼囊編, サイエンスフォーラム, 629p.)		375-384	1985
F. Shiraishi, H. Bandow	The genetic effects of the photochemical reaction products of propylene plus NO <sub>2</sub> on cultured Chinese hamster cells exposed <i>in vitro</i>	J. Toxicol. Environ. Health	15	531-538	1985
F. Shiraishi, S. Hashimoto, H. Bandow	Induction of sister chromatid exchanges in Chinese hamster V79 cells by exposure to the photochemical reaction products of toluene plus NO <sub>2</sub> in the gas phase	Mutat. Res.			in press

口頭発表

(1) 芳香族炭化水素の光酸化反応機構

著者	題目	学会等名称	開催都市名	年月
高木 博夫, 鷺田 伸明, 秋元 肇, 奥田 典夫	メシチレン/NO/H <sub>2</sub> O/空気系 の光酸化反応	第21回大気汚染学会	浦 和	55.11
坂東 博, 鷺田 伸明, 秋元 肇, 奥田 典夫	トルエン-窒素酸化物-空気 系の光酸化反応におけるベン ゼン環開裂反応	日本化学会第43春季年会	東 京	56. 3
鷺田 伸明, 秋元 肇, 高木 博夫, 坂東 博, 奥田 典夫	環状炭化水素(芳香族および シクロアルカン類)の光酸化 反応における環の開裂	日本化学会第44秋季年会・ 化学関係学協会連合協議会 研究発表会・中国四国化学 関係学協会支部連合秋季大 会・合同大会	岡 山	56.10
坂東 博, 鷺田 伸明, 秋元 肇, 奥田 典夫	芳香族炭化水素-窒素酸化物 -空気系光酸化反応における 環開裂反応生成物	第22回大気汚染学会	秋 田	56.10
坂東 博, 高木 博夫, 鷺田 伸明, 秋元 肇	FTIR による芳香族炭化水素 のNO <sub>x</sub> による光酸化反応の 研究	光化学討論会	金 沢	57.10
坂東 博, 高木 博夫, 鷺田 伸明, 秋元 肇	FTIR を用いたベンゼン, ト ルエンのNO <sub>2</sub> による光酸化 反応	第23回大会汚染学会	宮 崎	57.11
坂東 博, 高木 博夫, 鷺田 伸明, 秋元 肇	アルキルベンゼン+OH ラジ カル+O <sub>2</sub> 系における環開裂 の反応機構	日本化学会第47春季年会	京 都	58. 4
H. Bandow, N. Washida, H. Akimoto	FTIR studies of the pho- oxidation of aromatic hydrocarbons	11th Int. Conf. Photochem.	Maryland (USA)	58. 8

## (2) 光化学二次汚染物質の細胞暴露影響

発表者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
白石 不二雄, 坂東 博, 秋元 肇, 久保田憲太郎, 黒木 登志夫	光化学二次汚染物質の培養細胞 への暴露方式について	第22回大気汚染学会	秋 田	56.10
白石 不二雄, 坂東 博, 秋元 肇, 村上 正孝, 久保田憲太郎	プロピレン+NO <sub>2</sub> の光化学反 応生成物暴露による培養細胞の 姉妹染色分体交換の誘導につい て	第23回大気汚染学会	宮 崎	57.11
白石 不二雄, 坂東 博, 橋本 訓, 秋元 肇, 村上 正孝, 久保田憲太郎	トルエン+NO <sub>2</sub> の光化学生成 物暴露による培養細胞の姉妹染 色分体交換の誘導について	第24回大気汚染学会	四日市	58.11
白石 不二雄, 坂東 博, 秋元 肇, 村上 正孝, 久保田憲太郎	ガス状アルデヒド類の暴露によ る培養細胞の姉妹染色分体交換	第25回大気汚染学会	宇部市	59.11

## (3) 光化学二次汚染物質の動物暴露実験

発表者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
鈴木 明, 局 博一, 市瀬 孝道, 嵯峨井 勝, 久保田憲太郎	動物暴露用フロータイプ光化学 チャンバーについて	第23回大気汚染学会	宮 崎	57.11
鈴木 明, 局 博一, 嵯峨井 勝, 久保田憲太郎	光化学生成物がラットの呼吸 様式、心拍数等に及ぼす影響 に関する実験的研究	第24回大気汚染学会	四日市	58.11



## 国立公害研究所特別研究成果報告

- 第 1 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究——霞ヶ浦を対象域として——昭和51年度。(1977)  
第 2 号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究——昭和51/52年度 研究報告。(1978)

(改 称)

## 国立公害研究所研究報告

- ※ 第 3 号 A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus *Chironomus* (Diptera, Chironomidae). (1978)  
(日本産ユスリカ科 *Chironomus* 属9種の成虫, サナギ, 幼虫の形態の比較)
- 第 4 号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究——昭和52年度 中間報告。(1978)
- 第 5 号 芳香族炭化水素-窒素酸化物系の光酸化反応機構と光酸化二次生成物の培養細胞に及ぼす影響に関する研究——昭和51, 52年度 研究報告。(1978)
- 第 6 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(Ⅱ)——霞ヶ浦を中心として。——昭和53年度。(1979)
- ※ 第 7 号 A morphological study of adults and immature stages of 20 Japanese species of the family Chironomidae (Diptera). (1979)  
(日本産ユスリカ科20種の成虫, サナギ, 幼虫の形態学的研究)
- ※ 第 8 号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究——昭和52, 53年度 研究報告。(1979)
- 第 9 号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究——昭和53年度 中間報告。(1979)
- 第 10 号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究——昭和51~53年度 特別研究報告。(1979)
- ※ 第 11 号 Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity. (1980)  
(大気汚染物質の植物影響およびその植物毒性の機構に関する研究)
- 第 12 号 Multielement analysis studies by flame and inductively coupled plasma spectroscopy utilizing computer-controlled instrumentation. (1980)  
(コンピュータ制御装置を利用したフレイムおよび誘導結合プラズマ分光法による多元素同時分析)
- 第 13 号 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1980)  
Part 1. The distribution of chironomid species in a tributary in relation to the degree of pollution with sewage water.  
Part 2. Description of 20 species of Chironominae recovered from a tributary.  
(多摩川に発生するユスリカの研究  
——第1報 その一支流に見出されたユスリカ各種の分布と下水による汚染度との関係——  
——第2報 その一支流に見出された Chironominae 亜科の20種について——)
- 第 14 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究——昭和53, 54年度 特別研究報告。(1980)
- ※ 第 15 号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究——昭和54年度 特別研究報告。(1980)
- 第 16 号 計測車レーザーレーダーによる大気汚染遠隔計測。(1980)
- ※ 第 17 号 流体の運動および輸送過程に及ぼす浮力効果——臨海地域の気象特性と大気拡散現象の研究——昭和53, 54年度 特別研究報告。(1980)

- 第 18 号 Preparation, analysis and certification of PEPPERBUSH standard reference material. (1980)  
(環境標準試料「リョウブ」の調製, 分析および保証値)
- ※第 19 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (Ⅲ) — 霞ヶ浦 (西浦) の湖流 — 昭和53, 54年度.  
(1981)
- 第 20 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (Ⅳ) — 霞ヶ浦流域の地形, 気象水文特性およびその湖水環境に及ぼす影響 — 昭和53, 54年度. (1981)
- 第 21 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (Ⅴ) — 霞ヶ浦流入河川の流出負荷量変化とその評価 — 昭和53, 54年度. (1981)
- 第 22 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (Ⅵ) — 霞ヶ浦の生態系の構造と生物現存量 — 昭和53, 54年度. (1981)
- 第 23 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (Ⅶ) — 湖沼の富栄養化状態指標に関する基礎的研究 — 昭和53, 54年度. (1981)
- 第 24 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (Ⅷ) — 富栄養化が湖利用に及ぼす影響の定量化に関する研究 — 昭和53, 54年度. (1981)
- 第 25 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (Ⅸ) — *Microcystis* (藍藻類) の増殖特性 — 昭和53, 54年度. (1981)
- 第 26 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (Ⅹ) — 藻類培養試験法による A G P の測定 — 昭和53, 54年度. (1981)
- 第 27 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (Ⅺ) — 研究総括 — 昭和53, 54年度. (1981)
- 第 28 号 複合大気汚染の植物影響に関する研究 — 昭和54, 55年度 特別研究報告. (1981)
- 第 29 号 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1981)  
Part 3. Species of the subfamily Orthocladiinae recorded at the summer survey and their distribution in relation to the pollution with sewage waters.  
Part 4. Chironomidae recorded at a winter survey.  
(多摩川に発生するユスリカ類の研究  
— 第 3 報 夏期の調査で見出されたエリユスリカ亜科 Orthocladiinae 各種の記載と, その分布の下水汚染度との関係について —  
— 第 4 報 南浅川の冬期の調査で見出された各種の分布と記載 —)
- ※第 30 号 海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究 — 昭和54, 55年度 特別研究報告. (1982)
- 第 31 号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究 — 昭和55年度 特別研究報告. (1981)
- 第 32 号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究 — 環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究 (フィールド研究 1) — 昭和54年度 特別研究報告. (1982)
- 第 33 号 臨海地域の気象特性と大気拡散現象の研究 — 大気運動と大気拡散過程のシミュレーション — 昭和55年度 特別研究報告. (1982)
- ※第 34 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究 — 昭和55年度 特別研究報告. (1982)
- 第 35 号 環境面よりみた地域交通体系の評価に関する総合解析研究. (1982)
- 第 36 号 環境試料による汚染の長期モニタリング手法に関する研究 — 昭和55, 56年度 特別研究報告. (1982)
- 第 37 号 環境施策のシステム分析支援技術の開発に関する研究. (1982)
- 第 38 号 Preparation, analysis and certification of POND SEDIMENT certified reference material. (1982)  
(環境標準試料「池底質」の調製, 分析及び保証値)
- ※第 39 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究 — 昭和56年度 特別研究報告. (1982)

- 第 40 号 大気汚染物質の単一及び複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究 — 昭和56年度 特別研究報告。(1983)
- ※ 第 41 号 土壌環境の遠隔計測と評価に関する統計学的研究。(1983)
- ※ 第 42 号 底泥の物性及び流送特性に関する実験的研究。(1983)
- ※ 第 43 号 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1983)  
 Part 5. An observation on the distribution of Chironominae along the main stream in June with description of 15 new species.  
 Part 6. Description of species of the subfamily Orthoclaadiinae recovered from the main stream in the June survey.  
 Part 7. Additional species collected in winter from the main stream.  
 (多摩川に発生するユスリカ類の研究  
 — 第 5 報 本流に発生するユスリカ類の分布に関する 6 月の調査成績とユスリカ亜科に属する 15 新種等の記録 —  
 — 第 6 報 多摩本流より 6 月に採集されたエリユスリカ亜科の各種について —  
 — 第 7 報 多摩本流より 3 月に採集されたユスリカ科の各種について —)
- 第 44 号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究。 — 環境大気における光化学二次汚染物質生成機構の研究 (フィールド研究 2) — 昭和54年度 特別研究中報告。(1983)
- 第 45 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究 — 昭和53年/55年度 特別研究報告。(1983)
- 第 46 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究 — 昭和54/55年度 特別研究報告 第1分冊。(1983)
- 第 47 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究 — 昭和54/55年度 特別研究報告 第2分冊。(1983)
- ※ 第 48 号 水質観測点の適正配置に関するシステム解析。(1983)
- 第 49 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究 — 昭和57年度 特別研究報告。(1984)
- ※ 第 50 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (I) — 霞ヶ浦の流入負荷量の算定と評価 — 昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- ※ 第 51 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (II) — 霞ヶ浦の湖内物質循環とそれを支配する因子 — 昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- ※ 第 52 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (III) — 霞ヶ浦高浜入における隔離水界を利用した富栄養化防止手法の研究 — 昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第 53 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (IV) — 霞ヶ浦の魚類及び甲殻類現存量の季節変化と富栄養化 — 昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第 54 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (V) — 霞ヶ浦の富栄養化現象のモデル化 — 昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第 55 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (VI) — 富栄養化防止対策 — 昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第 56 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (VII) — 湯ノ湖における富栄養化とその防止対策 — 昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- ※ 第 57 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (VIII) — 総括報告 — 昭和55~57年度 特別研究報告。(1984)
- 第 58 号 環境試料による汚染の長期的モニタリング手法に関する研究 — 昭和55~57年度 特別研究総合報告。(1984)

- 第 59 号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究 — 光化学スモッグチャンバーによるオゾン生成機構の研究 — 大気中における有機化合物の光酸化反応機構の研究 — 昭和55~57年度 特別研究報告(第1分冊)。(1984)
- 第 60 号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究 — 光化学エアロゾル生成機構の研究 — 昭和55~57年度 特別研究報告(第2分冊)。(1984)
- 第 61 号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究 — 環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究(フィールド研究1) — 昭和55~57年度 特別研究報告(第3分冊)。(1984)
- 第 62 号 有害汚染物質による水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究 — 昭和56~58年度 特別研究中間報告。(1984)
- ※ 第 63 号 海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究 — 昭和56年度 特別研究報告。(1984)
- ※ 第 64 号 複合大気汚染の植物影響に関する研究 — 昭和54~56年度 特別研究総合報告。(1984)
- 第 65 号 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 1. (1984)  
(複合大気汚染の植物に及ぼす影響 — 第1分冊)
- ※ 第 66 号 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants—Part 2. (1984)  
(複合大気汚染の植物に及ぼす影響 — 第2分冊)
- 第 67 号 環境中の有害物質による人の慢性影響に関する基礎的研究 — 昭和54~56年度 特別研究総合報告。(1984)
- ※ 第 68 号 汚泥の土壤還元とその環境に関する研究 — 昭和56~57年度 特別研究総合報告。(1984)
- ※ 第 69 号 中禅寺湖の富栄養化現象に関する基礎的研究。(1984)
- 第 70 号 Studies on chironomid midges in lakes of the Nikko National Park (1984)  
Part I. Ecological studies on chironomids in lakes of the Nikko National Park.  
Part II. Taxonomical and morphological studies on the chironomid species collected from lakes in the Nikko National Park.  
(日光国立公園の湖沼のユスリカに関する研究  
— 第1部 日光国立公園の湖のユスリカの生態学的研究 —  
— 第2部 日光国立公園の湖沼に生息するユスリカ類の分類学的、形態学的研究 —)
- ※ 第 71 号 リモートセンシングによる残雪及び雪田植生の分布解析。(1984)
- 第 72 号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究. 環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究(フィールド研究2) — 昭和55~57年度 特別研究報告(第4分冊)。(1985)
- ※ 第 73 号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究. — 昭和55~57年度 特別研究総合報告。(1985)
- ※ 第 74 号 都市域及びその周辺の自然環境等に係る環境指標の開発に関する研究. 環境指標 — その考え方と作成方法 — 昭和59年度 特別研究報告。(1985)
- 第 75 号 Limnological and environmental studies of elements in the sediment of Lake Biwa. (1985)  
(琵琶湖底泥中の元素に関する陸水学及び環境化学的研究)
- 第 76 号 A Study on the behavior of monoterpens in the atmosphere. (1985)  
(大気中モノテルペンの挙動に関する研究)
- 第 77 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究 — 昭和58年度 特別研究報告。(1985)
- 第 78 号 生活環境保全に果たす生活者の役割の解明。(1985)
- 第 79 号 Studies on the method for long term environmental monitoring - Research report in 1980-1982. (1985)  
(環境汚染による汚染の長期的モニタリング手法に関する研究)

- 第 80 号 海域における赤潮発生モデル化に関する研究 — 昭和57～58年度 特別研究報告. (1985)
- 第 81 号 環境影響評価制度の政策効果に関する研究 — 地方公共団体の制度運用を中心として.  
(1985)
- 第 82 号 植物の大気環境浄化機能に関する研究 — 昭和57～58年度 特別研究報告. (1985)
- 第 83 号 Studies on chironomid midges of some lakes in Japan. (1985)  
(日本の湖沼のユスリカの研究)
- 第 84 号 重金属環境汚染による健康影響評価手法の開発に関する研究 — 昭和57～59年度 特別研究総合報告. (1985)
- 第 85 号 Studies on the rate constants of free radical reactions and related spectroscopic and thermochemical parameters. (1985)  
(フリーラジカルの反応速度と分光学的及び熱力学的パラメーターに関する研究)
- 第 86 号 GC/MS スペクトルの検索システムに関する研究. (1986)
- 第 87 号 光化学二次汚染物質の分析とその細胞毒性に関する研究 — 昭和53～58年度 総合報告.  
(1986)

※ 残部なし

### Report of Special Research Project the National Institute for Environmental Studies

- No. 1\* Man activity and aquatic environment – with special references to Lake Kasumigaura – Progress report in 1976. (1977)
- No. 2\* Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants – Progress report in 1976-1977. (1978)

[Starting with Report No. 3, the new title for NIES Reports was changed to:]

### Research Report from the National Institute for Environmental Studies

- ※ No. 3 A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus *Chironomus* (Diptera, Chironomidae). (1978)
- No. 4\* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system – Progress report in 1977. (1978)
- No. 5\* Studies on the photooxidation products of the alkylbenzene-nitrogen oxides system, and on their effects on Cultured Cells – Research report in 1976-1977. (1978)
- No. 6\* Man activity and aquatic environment – with special references to Lake Kasumigaura – Progress report in 1977-1978. (1979)
- ※ No. 7 A morphological study of adults and immature stages of 20 Japanese species of the family Chironomidae (Diptera). (1979)
- ※ No. 8\* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants – Research report in 1977-1978. (1979)
- No. 9\* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system – Progress report in 1978. (1979)
- No.10\* Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants – Progress report in 1976-1978. (1979)
- ※ No.11 Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity. (1980)
- No.12 Multielement analysis studies by flame and inductively coupled plasma spectroscopy utilizing computer-controlled instrumentation. (1980)
- No.13 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1980)
- Part 1. The distribution of chironomid species in a tributary in relation to the degree of pollution with sewage water.
- Part 2. Description of 20 species of Chironominae recovered from a tributary.
- No.14\* Studies on the effects of organic wastes on the soil ecosystem – Progress report in 1978-1979. (1980)
- ※ No.15\* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants – Research report in 1977-1978. (1980)
- No.16\* Remote measurement of air pollution by a mobile laser radar. (1980)
- ※ No.17\* Influence of buoyancy on fluid motions and transport processes – Meteorological characteristics and atmospheric diffusion phenomena in the coastal region – Progress report in 1978-1979. (1980)
- No.18 Preparation, analysis and certification of PEPPERBUSH standard reference material. (1980)
- ※ No.19\* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas – Lake current of Kasumigaura (Nishiura) – 1978-1979. (1981)
- No.20\* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas – Geomorphological and hydrometeorological characteristics of Kasumigaura watershed as related to the lake environment – 1978-1979. (1981)

- No.21\* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas – Variation of pollutant load by influent rivers to Lake Kasumigaura – 1978-1979. (1981)
- No.22\* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas – Structure of ecosystem and standing crops in Lake Kasumigaura – 1978-1979. (1981)
- No.23\* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas – Applicability of trophic state indices for lakes – 1978-1979. (1981)
- No.24\* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas – Quantitative analysis of eutrophication effects on main utilization of lake water resources – 1978-1979. (1981)
- No.25\* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas – Growth characteristics of Blue-Green Algae, *Mycrocystis* – 1978-1979. (1981)
- No.26\* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas – Determination of algal growth potential by algal assay procedure – 1978-1979. (1981)
- No.27\* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas – Summary of researches – 1978-1979. (1981)
- No.28\* Studies on effects of air pollutant mixtures on plants – Progress report in 1979-1980. (1981)
- No.29 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1981)  
 Part 3. Species of the subfamily Orthoclaadiinae recorded at the summer survey and their distribution in relation to the pollution with sewage waters.  
 Part 4. Chironomidae recorded at a winter survey.
- ※ No.30\* Eutrophication and red tides in the coastal marine environment – Progress report in 1979-1980. (1982)
- No.31\* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants – Research report in 1980. (1981)
- No.32\* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system – Progress report in 1979 – Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere (Part 1). (1982)
- No.33\* Meteorological characteristics and atmospheric diffusion phenomena in the coastal region – Simulation of atmospheric motions and diffusion processes – Progress report in 1980. (1982)
- ※ No.34\* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution – Research report in 1980. (1982)
- No.35\* Comprehensive evaluation of environmental impacts of road and traffic. (1982)
- No.36\* Studies on the method for long term environmental monitoring – Progress report in 1980-1981. (1982)
- No.37\* Study on supporting technology for systems analysis of environmental policy – The evaluation laboratory of Man-environment Systems. (1982)
- No.38 Preparation, analysis and certification of POND SEDIMENT certified reference material. (1982)
- ※ No.39\* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution – Research report in 1981. (1983)
- No.40\* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants – Research report in 1981. (1983)
- ※ No.41\* Statistical studies on methods of measurement and evaluation of chemical condition of soil. (1983)
- ※ No.42\* Experimental studies on the physical properties of mud and the characteristics of mud transportation. (1983)
- ※ No.43 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1983)

Part 5. An observation on the distribution of Chironominae along the main stream in June, with description of 15 new species.

Part 6. Description of species of the subfamily Orthocladiinae recovered from the main stream in the June survey.

Part 7. Additional species collected in winter from the main stream.

- No.44\* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system – Progress report in 1979 – Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere (Part 2). (1983)
- No.45\* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem – Outlines of special research project – 1978-1980. (1983)
- No.46\* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem – Research report in 1979-1980, Part 1. (1983)
- No.47\* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem – Research report in 1979-1980, Part 2. (1983)
- ※ No.48\* Study on optimal allocation of water quality monitoring points. (1983)
- No.49\* The development and evaluation of remote measurement method for environmental pollution – Research report in 1982. (1984)
- ※ No.50\* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Estimation of input loading of Lake Kasumigaura. – 1980-1982. (1984)
- ※ No.51\* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – The function of the ecosystem and the importance of sediment in natural cycle in Lake Kasumigaura. – 1980-1982. (1984)
- ※ No.52\* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Enclosure experiments for restoration of highly eutrophic shallow Lake Kasumigaura. – 1980-1982. (1984)
- No.53\* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Seasonal changes of the biomass of fish and crustacea in Lake Kasumigaura and its relation to the eutrophication. – 1980-1982. (1984)
- No.54\* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Modeling the eutrophication of Lake Kasumigaura. – 1980-1982. (1984)
- No.55\* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Measures for eutrophication control. – 1980-1982. (1984)
- No.56\* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Eutrophication in Lake Yunoko. – 1980-1982. (1984)
- ※ No.57\* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Summary of researches. – 1980-1982. (1984)
- No.58\* Studies on the method for long term environmental monitoring – Outlines of special research project in 1980-1982. (1984)
- No.59\* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen-sulfur oxides system – Photochemical ozone formation studied by the evacuable smog chamber – Atmospheric photooxidation mechanisms of selected organic compounds – Research report in 1980-1982 Part 1. (1984)
- No.60\* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen-sulfur oxides system – Formation mechanisms of photochemical aerosol – Research report in 1980-1982 Part 2. (1984)
- No.61\* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen-sulfur oxides system – Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere (Part 1). – Research report in 1980-1982. (1984)



- No.62\* Effects of toxic substances on aquatic ecosystems -- Progress report in 1980-1983. (1984)
- ※ No.63\* Eutrophication and red tides in the coastal marine environment -- Progress report in 1981. (1984)
- ※ No.64\* Studies on effects of air pollutant mixtures on plants -- Final report in 1979-1981. (1984)
- No.65 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants -- Part 1. (1984)
- ※ No.66 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants -- Part 2. (1984)
- No.67\* Studies on unfavourable effects on human body regarding to several toxic materials in the environment, using epidemiological and analytical techniques -- Project research report in 1979-1981. (1984)
- ※ No.68\* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil -- Research report in 1981-1983. (1984)
- ※ No.69\* Fundamental studies on the eutrophication of Lake Chuzenji -- Basic research report. (1984)
- No.70 Studies on chironomid midges in lakes of the Nikko National Park -- Part I. Ecological studies on chironomids in lakes of the Nikko National Park. -- Part II. Taxonomical and morphological studies on the chironomid species collected from lakes in the Nikko National Park. (1984)
- ※ No.71\* Analysis on distributions of remnant snowpack and snow patch vegetation by remote sensing. (1984)
- No.72\* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides-system -- Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere. -- Research report in 1980-1982, Part 4. (1985)
- ※ No.73\* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides-system -- Final report in 1980-1982. (1985)
- ※ No.74\* A comprehensive study on the development of indices system for urban and suburban environmental quality--Environmental indices--Basic notion and formation. (1984)
- No.75 Limnological and environmental studies of elements in the sediment of Lake Biwa. (1985)
- No.76 A Study on the behavior of monoterpenes in the atmosphere. (1985)
- No.77\* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution --Research report in 1983. (1985)
- No.78\* Study on residents' role in conserving the living environment. (1985)
- No.79 Studies on the method for long term environmental monitoring -- Research report 1980-1982. (1985)
- No.80\* Modeling of red tide blooms in the coastal sea -- Research report in 1982-1983. (1985)
- No.81\* A study on effects of implementing environmental impact assessment procedure -- With particular reference to implementation by local governments. (1985)
- No.82\* Studies on the role of vegetation as a sink of air pollutants -- Research report in 1982-1983. (1985)
- No.83 Studies on chironomid midges of some lakes in Japan. (1985)
- No.84\* A comprehensive study on the development of assessment techniques for health effects due to environmental heavy metal exposure -- Final report in 1982-1984. (1985)
- No.85 Studies on the rate constants of free radical reactions and related spectroscopic and thermochemical parameters. (1985)
- No.86\* A novel retrieval system for identifications of unknown mass spectra. (1986)
- No.87\* Analysis of the photochemical secondary pollutants and their toxicity on cultured cells -- Research report in 1978-1983. (1986)

\* in Japanese

※ out of stock

編集委員会委員

委員長	廣崎 昭太	委員	福山 力
副委員長	村岡 浩爾	〃	陶野 郁雄
〃	溝口 次夫	〃	嵯峨井 勝
委員	阿部 重信	〃	安藤 満
〃	松本 幸雄	〃	近藤 矩朗
〃	北畠 能房	〃	高橋 弘
〃	大槻 晃	〃(幹事)	増田 啓子

[昭和60年7月29日受領]

[昭和60年10月30日受理]

RESEARCH REPORT FROM  
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

No. 87

国立公害研究所研究報告 第87号

(R-87-'86)

---

昭和61年2月28日発行

発行 環境庁 国立公害研究所

〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

---

印刷 株式会社 イセブ

茨城県新治郡桜村天久保2-11-20

Published by the National Institute for Environmental Studies  
Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan  
February 1986