

R-5-78

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 ——

Studies on the photooxidation products of
the alkylbenzene-nitrogen oxides system,
and on their effects on Cultured Cells
Research report in 1976-1977

THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境庁 国立公害研究所

序

大気汚染物質の健康影響については公衆衛生学的な立場から近年とくに重視されてきたが、その実体については学問的にも大へんむずかしい問題をはらんでいる。それは、工場などの固定発生源や、自動車などの移動発生源からいろいろな大気汚染物質が放出されているのみならず、それらが大気中でお互いに複雑な反応をおこして、様々な不安定で生物活性のある物質を作り出していることが次第に明らかにされてきたからである。さらに、それらの毒性物質がきわめて高濃度に存在するときには、その毒性についても明らかな生体反応がみられるが、現在のわが国で普通に見られるような低濃度ではたしてどんな健康影響がおこるものか、そのような域値すれすれの現象については未知の分野が多いし、研究も困難になってくる。

国立公害研究所はまだ発足以来日が浅いが、その所員にいろいろな専門分野の研究者を集めて、それらの協力研究プロジェクトとして大気汚染の問題にとりくみ始めている。そこには光化学スモッグの発生機構などにとりくむ気体化学者、それらの汚染物質や反応物質の同定と定量にとりくむ分析化学者、汚染物質の拡散を研究する流体物理学者、汚染物質の植物に対する影響を解析する植物生態学者や植物生理学者、さらにその人体や諸動物への影響を研究する基礎医学者、公衆衛生学者、病理学者、獣医学者など、多くの新進気鋭の研究者たちが国内はもとより、外国に滞在していた日本人科学者もいくたりか招換してその研究プロジェクトを発足させることができた。

ここにとりまとめた研究報告は、当研究所の大気汚染に関するいくつかの研究プロジェクトのうち、環境生理部と大気環境部の協同でおこなわれた人体影響にかかわる基礎研究のこれまでの成果をとりまとめたものである。

この種の研究としては、もとより、その緒についたばかりではあるが、いろいろな異なった専門分野の研究者が従来の学問領域の壁をお互いに突きやぶって共同してとりくんできたという面では、他の研究組織では期待できない成果をあげたと考えられる。また、ズートロンにおける実験動物の大気汚染物質暴露チャンバー、光化学スモッグチャンバーなど、この研究所にあたえられた大型施設が活用されているのも一つの特徴といえよう。

この共同研究にとりくんだ各研究者の努力とご苦勞をねぎらうと共に、研究所内外のさらにひろい層の研究者の方々のご協力をえてこの方面の研究がさらに発展することを祈念したい。

1978年10月

国立公害研究所長

佐々学

目 次

序 (佐々 学)

I. 研究の経緯および経過 (久保田憲太郎)	1
II. 研究成果の概要	
A. 光化学二次汚染物質の化学組成 (奥田典夫)	7
B. 光化学二次汚染物質の培養細胞に及ぼす影響 (清水不二雄)	12
III. 今後の研究の方向 (秋元 肇)	17
IV. 報 文	
1. 気相におけるトルエン-NO ₂ -O ₂ -N ₂ 系の光酸化反応機構の研究	23
秋元 肇・星野幹雄・井上 元・奥田典夫・鷺田伸明	
2. 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 気相光酸化反応	43
星野幹雄・秋元 肇・奥田典夫	
3. 光イオン化ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた <i>o</i> -, <i>m</i> -, <i>p</i> -キシレンの光酸化反応二次生成物の分析	61
高木博夫・鷺田伸明・秋元 肇・奥田典夫	
4. トルエンと窒素酸化物の光酸化反応生成物の培養細胞に及ぼす影響	77
白石不二雄・清水不二雄・久保田憲太郎	

CONTENTS

Preface

M. SASA

I. Background of the Studies	1
K. KUBOTA	
II. Outline and Summary of the Studies	
A. Chemical Analysis of Photooxidation Products	7
M. OKUDA	
B. Effects of Photooxidation Products on Cultured Cells	12
F. SHIMIZU	
III. Future Research Plans	17
H. AKIMOTO	
IV. Papers	
1. Reaction Mechanism of the Photooxidation of the Toluene-NO ₂ -O ₂ -N ₂ System in the Gas Phase	23
H. AKIMOTO, M. HOSHINO, G. INOUE, M. OKUDA and N. WASHIDA	
2. Photochemical Oxidation of Benzene, Toluene and Ethylbenzene Initiated by OH Radicals in the Gas Phase	43
M. HOSHINO, H. AKIMOTO and M. OKUDA	
3. Analysis of the Reaction Products in the Photooxidation of <i>o</i> -, <i>m</i> -, <i>p</i> -Xylene by the Gas Chromatograph/Photo- ionization Mass Spectrometry	61
H. TAKAGI, N. WASHIDA, H. AKIMOTO and M. OKUDA	
4. Effects of Photooxidation Products in the Toluene-Nitrogen Oxides-Air System on Cultured Cells	77
F. SHIRAIISHI, F. SHIMIZU and K. KUBOTA	

研究の経緯および経過

久保田憲太郎（環境生理部）

人間の生産活動に伴う工場排煙や自動車排ガス等で大気が汚染され、この大気環境の悪化が生物へいかなる影響を及ぼすかは重要な社会問題となって来た。

現在都市部における代表的な大気汚染物質として NO_2 、 SO_2 、 CO 、二次生成汚染物質、エアロゾル等が明らかにされている。これらの汚染物質の中で、最近特に注目されているのは、 NO_x と炭化水素の光酸化反応によって生成された二次生成物質による光化学スモッグの問題である。

光化学スモッグの人体被害については、我が国では昭和45年頃より報告されはじめ、同年7月18日東京杉並R高校生徒による急性障害例により、にわかに社会的注目をあびるようになった。

その臨床症状の主なもの^Dは、局所粘膜症状、全身症状、神経症状、末梢血管拡張症状に大別される。R高校の例では自覚症状として、眼症状は、眼痛・流涙98%、咽頭症状は咳61%、呼吸困難69%等局所粘膜症状を大半の生徒が訴えた。全身症状として頭痛・めまい39%、嘔気・嘔吐14%、悪寒・発熱23%、倦怠感25%、神経症状としてのしびれ感23%、けいれん11%、意識障害7%にみられ

表1 いわゆる光化学スモッグによる急性障害例の臨床症状¹⁾

O ₃ 濃度			昭45.7 東京R高校(44例) 0.29 ppm	昭46.8 大阪地区(12例) 0.18~0.14	昭47.5~47.8 東京地区(26例) 0.15~0.18
局所 粘膜 症状	眼症状	眼痛 流涙	43(98%)	12(100%)	21(80%)
	咽頭症状	咽頭痛	37*(84.0)	12(100)	18(69)
	気肺 道症 状	咳 息切れ、呼吸困難 その他(ぜんまい、胸痛)	27(61) 29(69) 5(11)	11(92) 7(59) 11(92)	8(31) 15(58)
全身 症状	全身 症状	頭痛・めまい	17(39)	7(59)	18(69)
		嘔気・嘔吐	6(14)	3(8)	6(23)
		悪寒・発熱	10(23)	9(75)	20(77)
		倦怠感	11(25)	5(25)	23(89)
神経 症状	神経 症状	しびれ感	10(23)	12(100)	8(31)
		手袋・靴下型知覚障害		2(17)	4(15)
		けいれん(振せん、四肢硬直)	5(11)	0	7(27)
		意識障害	3(7)	5(42)	3(12)
末梢 血管 症状	末梢 血管 症状	眼結膜充血	+	12(100)	+
		咽頭発赤	+	12(100)	+
		顔面紅潮	5(11)	4(33)	-

* そのほかに嘔声あり

た。このR高校はじめ多くは屋外でスポーツを行っている場合に発生しており、R高校では43名中11名の症状が重く、入院を必要とし、その内5名は高度の呼吸困難、けいれん発作、意識障害が起こり、重篤な症状を呈し、症状が長びいたり、反復するものがみられた。一方他覚的に結膜充血・咽頭発赤・顔面紅潮・血圧の一時低下が観察された¹⁾(表1参照)。

さらにこれらの症状の重症度分類を表2に示した¹⁾。

表2 R高校被害例における症状の重症度分類¹⁾

	I 軽度	II 中等度	III 高度	IV 重症
眼 症 状	+	+	+	+
咽 頭 症 状	+	+	+	+
乾 性 咳		-~+	+~#	+~#
息 切 れ		-~+	+~#	+~#
嘔 気 ・ 頭 痛 ・ め ま い		+	#	#
し び れ 感		-~+	#	#
顔 面 紅 潮			+	#
け い 識 障 害				+~#
				+~#
(頻 度)	5 (11%)	25 (58%)	8 (19%)	5 (11%)

光化学スモッグの発生は、東京・大阪の都市部のみならず、関東一円²⁾、伊勢湾、大阪湾沿岸地帯など非常に広域にわたってみられ、気象条件等により都市周辺の農村地帯まで人の健康被害が及んでいる。昭和45~47年の“いわゆる光化学スモッグ”による急性例の被害者の状況と O_x (オキシダント) 濃度・天候・気温・湿度・風向・風速等を表3に示した。この場合、 O_x 濃度は最寄りの測定点における最高濃度であり、他の気象条件は、東京、大阪管区気象台における午後0時の測定データであり、その被害の発生した地区の真の値を推定することはほとんど不可能であると考えられる。一方被害者の状況は、表3の場合、最初の一例を除き、すべて何らかの形で、屋外・屋内をとわず運動中であつたことが特徴である。

一般に運動負荷は肺の換気量の増大を伴い吸入経路の機能的変化を受けやすいと考えられるので、汚染物質の影響を強く増大させ、急性症状を起すことは、特に注目すべきであろう。昭和45年より昭和52年迄の全国被害者数、昭和51年までの被害地域について表4に示した。

光化学汚染大気中において、二次生成物として生成される物質の内には、生体に対して、急性・慢性の影響を及ぼす可能性のある物質が数多く含まれるものと予見出来るが、現在までオゾン等極く少数の化合物を除いては、その検出、同定もなされていないものが多く、それらの生体に対する毒性の研究はきわめて少い。

表3 いわゆる光化学スモッグによる主な急性障害例¹⁾

月 日	発 生 地	*O _x 濃度 ppm	** 天候	気 温	湿 度	風 向	風 速	状 況
1970. 6. 28.	木 更 津 (千葉)	0.22 (東京)	晴	32° (東京)	25~54% (東京)	N-NW (午前) S-SW (午後)	1~5	魚つり
7. 18.	立 正 高 校 (東京)	0.29	晴	30~32	50~60	SE-SSE	1.0	ソフトボール、水泳など
8. 5.	鶴 川 高 校 (東京)	0.27	晴	33.5	54	SE	1.3	体育
1971. 8. 8.	桜水商業高校 (東京)	0.11	晴	32.0				1000 m水泳
8. 27.	高石中学校など (大阪)	0.18	晴	32.8	51	ENE	2.3	グラウンド整備、ソフトボール
1972. 9. 2.	堺豊学校など (東京)	0.14	晴	27.2	47	NNE	2.8	6000 mマラソン
5. 12.	石 神 井 南 中 (東京)	0.16	晴	25.7	47	SE	3.5	バレーボール
5. 26.	石 神 井 南 中 (東京)	0.08	晴	22.2	46	S	8.8	持久走
6. 1.	大 森 一 中 (東京)	0.05	晴	23.9	37	S	5.7	運動会練習中
6. 22.	清 子 中 (東京)	0.08	曇	24.1	56	SSE	3.5	100 m疾走
6. 30.	太 大 堂 中 (東京)	0.15	曇	27.5	65	S	6.2	体育館体育
7. 29.	大 森 一 中 (東京)	0.07	曇	26.9	56	ESE	1.8	バスケットボール
7. 30.	東京女子体育大 (東京)	0.11	曇	31.2	58	SE	2.7	体育館床運動
8. 5.	藤 村 学 園 (東京)	0.12	晴	32.3	55	SE	3.3	体育館床運動
8. 17.	大 山 高 校 (東京)	0.15	晴	30.2	55	S	4.3	7000 mマラソン

* O_x 濃度：最寄りの測定地における最高濃度

** 東京、大阪管区气象台における午前0時の測定データ

表4 被害届出人数の推移³⁾

都 府 県	年						
	昭和45年	46	47	48	49	50	51
1 宮 城							
2 福 島						31	2
3 茨 城			728	207	17	31	
4 栃 木				776	38	23	
5 群 馬						1,959	
6 埼 玉	1,262	3,663	5,726	6,774	1,498	16,624	894
7 千 葉	5,923	1,169	561	155	237	277	130
8 東 京	10,064	28,223	8,439	4,035	2,711	5,210	477
9 神 奈 川	638	13,183	1,383	2,526	941	11,497	1,957
10 静 岡				8,278	162	6,345	
11 愛 知		277	716	330	151	1,787	69
12 三 重			231	1,148	630	1,786	295
13 滋 賀				16		1	
14 京 都			13	599	1	79	69
15 大 阪		1,600	1,565	3,122	774	290	176
16 兵 庫		3	430	989	4,373	62	
17 奈 良			150	27			1
18 和 歌 山			136	102	7	4	16
19 岡 山				2,470	523	75	95
20 広 島			1,405	367	2,660		24
21 山 口							9
22 徳 島							
23 香 川				4			
24 愛 媛				11	2		1
合 計	17,887	48,118	21,483	31,936	14,725	46,081	4,215*

* 53年度環境白書によると昭和52年度では2,669人で昭和45年以来最低を示した。

昭和50年4月来、大気環境部では、ガラスチャンバーによる光化学スモッグ生成機構の研究が開始された。光化学スモッグ中の二次汚染物質としては、従来オゾン、アルデヒド、パーオキシアシルナイトレート（PAN類）などの存在が報告されているが、汚染大気中に含まれている数多くの個々の炭化水素に特有な酸化生成物に関してはほとんど研究されていない。我が国の汚染大気中に比較的高濃度に含まれている芳香族炭化水素に着目した。トルエンのみならず、環境大気中の存在が知られているベンゼン、キシレン、エチルベンゼンなどの芳香族炭化水素 - NO_x - O_2 / N_2 系の光酸化反応による二次生成物の検出、同定およびその生成機構の研究は大気環境部が担当し、一方二次生成物の実験病理学的毒性研究は、当初から実験動物を対象として用いないので、生体への影響を検索する第一歩として、その簡便性経済性のみならず、得られた結果のより詳細な解析が可能と思われる培養細胞を用いることとし、まず *in vitro* の Bioassay の確立を初期の目的として環境生理部が担当することにした。試料の一部は大気環境部の提供を受けた。本研究は昭和51年6月8日第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発足し、昭和52年度以降は経常研究として研究継続中である。

プロジェクトのメンバーは

プロジェクトリーダー：

奥田 典夫 (大気環境部)

プロジェクト参加者：

奥田 典夫 秋元 肇

鷺田 伸明 星野 幹雄

井上 元 (大気環境部)

久保田 憲太郎 清水 不二雄

白石 不二雄 (環境生理部)

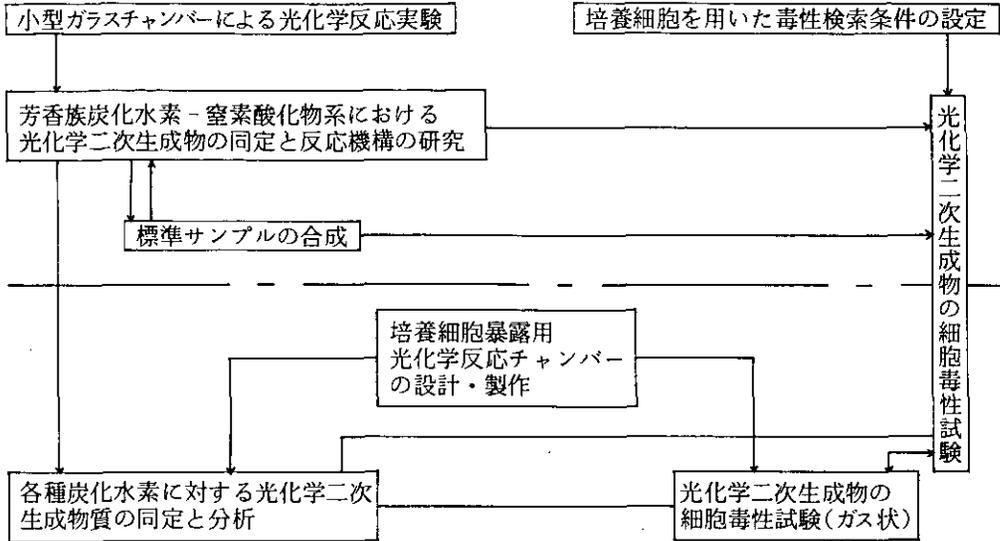
であり、これらの構成員によって適時、研究調整連絡会議が持たれた。研究分担は図1に示す。

大気環境部

研究調整連絡会議

環境生理部

昭和51
~
52年度



昭和53年度以降の予定

図1 研究分担

引用文献

- 1) 三上理一郎・工藤翔二, 日本臨牀 31, 123-131 (1973).
- 2) 宇都宮陽二期, 東北地理 30, 134-41 (1978).
- 3) 環境庁, 環境白書, 昭和52年.

II

研究成果の概要

A. 光化学二次汚染物質の化学組成

奥田典夫（大気環境部）

NO_xおよび炭化水素を含んだ汚染大気から生ずる光化学的二次汚染物質の化学組成は極めて複雑であり、主として、ガス状汚染質とエアロゾル汚染質に分けられる。エアロゾル汚染質の化学組成は最近、研究が開始されたばかりであって、その全体像はまだ描くことができない¹⁾。従来、精力的に研究されてきたガス状汚染質についても、その主成分である、オゾン、NO₂、PAN、アルデヒドについてはある程度の反応論的知見が得られているが、微量の汚染質である、他の多くの複雑な有機化合物については不明な点が多い。

環境大気中に含まれ、光化学スモッグ生成に関与する炭化水素類は数十種に及ぶが、それらはパラフィン系、オレフィン系、芳香族の3種類に分けられ、その光化学反応性は、大体において、オレフィン系>芳香族>パラフィン系の順である。従来、光化学反応性が高く、光化学大気汚染に寄与率の高いと考えられたオレフィン系炭化水素について、多くの研究がなされてきた。しかし、それ以外の炭化水素の寄与を無視できるものではなく、特に、芳香族炭化水素は次に述べるように、光化学大気汚染にとって重要である。芳香族炭化水素は無鉛ガソリン中に含まれ、また種々の有機溶剤として用いられているので、環境大気中の全炭化水素の含量の1/2を占めるような現状である²⁾。一般に、芳香族化合物は化学反応性の上でも、毒性の上でも、脂肪族化合物とは非常に異なる特性をもっているため、大気汚染の観点から、芳香族炭化水素について、オレフィン系炭化水素について研究したと同様に、徹底的な研究が必要であると考えられる。しかし、芳香族炭化水素のNO_xによる光酸化反応を研究するために、次のような新しい、実験的および理論的問題が存在するので、これまで、この分野の研究は極めて数少ない。

(1) オレフィン系炭化水素より分子量が大きいために、芳香族炭化水素および生成した芳香族化合物は液化しやすく、反応器壁に吸着しやすい。この性質は反応物質および生成物の定量の誤差を大きくする。

(2) 芳香族化合物の微量分析のため、試料の濃縮法、ガスクロマトグラフのカラムなど種々の新しい工夫を要する。

(3) 反応に関与する酸素原子、OHラジカルなどの炭化水素に対する攻撃の仕方が、オレフィン

系と芳香族では異なり、生成する反応中間体の構造も異なる。従って両者の反応速度も異なり、反応機構の考察の際に、両者の相違を注意深く考慮しなければならない。

本報告では、上記の目的に適した、新しい光化学反応装置を設計し、反応生成物の同定を行い、その濃度の時間変化を測定し、それら汚染質の生成機構を議論した。芳香族炭化水素として、環境大気中に多量に存在するベンゼン、トルエン、キシレンのほかに、エチルベンゼンなども研究した。

これら一連の芳香族炭化水素の NO_x による光酸化反応の生成物として、表1のような生成物を同定し、各報告中に記したように、各生成物の相対的生成量を確定した。これらの主要な生成物は環境大気中にも存在することが横浜国立大学の加藤龍夫氏らによって GC-MS などの方法を用いて確認されている³⁾。

得られた生成物の種類ならびに速度論的解析から、芳香族炭化水素の反応性は次のように結論される。

(1) アルキル基をもった芳香族炭化水素からアルデヒドが生成するが、芳香族環だけのベンゼンからアルデヒドは生成しない。

(2) 芳香族炭化水素は OH ラジカルによる置換反応によって、OH の附加したフェノール類を生成しやすい。これに反して、オレフィン系炭化水素では OH ラジカルが附加した状態では不安定なために、反応はさらに進行して、別の化合物を生じる。

(3) 芳香族炭化水素については、ベンゼン環の開環反応が興味深い問題であるが、キシレンについては開環反応による生成物と置換反応による生成物がほぼ等量であり、予想以上に開環反応が起きている。

なお、今後の課題として、次の3点が挙げられる。

(1) 未知生成物の同定法の改善

各報告中に見られるように、微量生成物についてはガスクロマトグラフのピークを観測しながら、GC-MS で同定できなかつたものが多い。一般的に、未知有機化合物の化学構造は質量スペクトル、赤外線吸収スペクトル、NMR スペクトル、紫外吸収スペクトルなど、いくつかの分析データを総合的に判断することによって初めて決定することができる。現在、主として FID-GC、GC-MS、光イオン化マスを用いているが、GC-IR を併用することが必要である。

(2) ベンゼン環の開環反応の詳細な研究

開環反応による生成物にはホルムアルデヒドのように毒性の強い物質が多いと思われるが、分子量の小さい有機化合物が多く、GC で決定しにくく、むしろ IR で確認しやすい。そのため、IR を併用することによって、開環反応をさらに正確に研究し、その寄与率を各化合物について決定する必要がある。

(3) 反応装置の改良

後に述べるように、GC および GC-MS 用の小型スモッグチャンバーは光源、窓板、加熱排気

装置に改良が望ましい。

1. 小型スモッグチャンバーの設計思想

光化学スモッグ生成の反応機構を解明するためには、一般的な光化学反応論の手法を適用し、次の点に留意しなければならない。

(1) スモッグ生成反応に関与する反応物質と生成物を同定する。この研究段階は通常、生成物分析と呼ばれる。

(2) 反応物質ないしは生成物の濃度の時間的変化を測定する。換言すれば、光化学スモッグの原因物質の減少速度、および二次汚染質の生成速度を測定する。これは反応速度論の古典的手法であり、これらの減少速度や生成速度の関係から反応機構の推定を行う。

従来のスモッグチャンバーで、できるだけ環境大気濃度に近い条件で実験を行おうとするならば、反応生成物の量は非常に微量となり、速度論的研究はオゾン、NO₂のような主生成物にのみ限定せざるをえなかった。しかし、これでは反応機構の詳細な決定を行うことができない。この目的のためには、生成物の速度論的解析が可能な程度に、反応物質の初期濃度を高めなければならない。この目的のために、次のような機能を有する小型スモッグチャンバーが設計された。

- (1) ソーラーシミュレーターとしての500Wのキセノンランプ、
- (2) パイレックスの窓をつけた円筒形のパイレックスガラス製の反応器、
- (3) チタンゲッターポンプ、イオンポンプを主とするオイルフリーの排気系、
- (4) 試料ガス導入系、
- (5) 生成ガス採取、濃縮管と連結したガスクロマトグラフを主とする分析装置

この光化学反応装置は従来、光化学反応の研究に用いられた1ℓ以下の容器の装置をスケールアップしたものである。照射光量を正確に決定できるように、キセノン灯にはできるだけ均一の照度をもった平行光線をえるための光学系として、軸外し方式を用いた。また、反応器は光が垂直に入射するように、円筒形を採用した。芳香族炭化水素の吸着性を考慮して、反応器はテフロンよりもガラスを用いた。そして、排気時にはリボンヒーターで、多少加熱排気できるようにした。また、芳香族炭化水素が油類と親和性の強いことを考慮して、反応系はすべて油で汚染されないように、テフロン製のグリスレスコックと前述のオイルフリーの排気系を用いた。1ℓ以上の光化学反応装置で、これ程、徹底的にオイルフリーの条件にした装置はこれが最初のものである。

また、この大きさのガラス管の細工は困難なため、窓ガラスはフランジで取り付け、その金属部分に側管を接続した。これらの金属部分はテフロンコーティングを行い、オゾンなど活性物質の分解を防止した。このような種々の工夫および経験は大型スモッグチャンバーの設計の際に、非常に役立った。

この小型スモッグチャンバーはなお、次のような改良を必要とする。

(1) 500 W キセノンアーク灯はソーラーシミュレーターとして光量が多少不足するので、1 kW キセノンアーク灯に変える。

(2) 加熱排気をするために、リボンヒーターでは温度が数十度にしかならないので、電気炉のようにしっかりした断熱材を用いた、取り外し可能なヒーターを用いる必要がある。

(3) 窓板はバイレックスガラスでは 300nm 附近の光をカットするので、ソーラーシミュレーターの分光特性が太陽光と違うようになる。そのため、石英板を用いるのが望ましい。

(4) 理想的な実験条件を求めるならば、反応器は現在の 25cm φ から 30cm φ にし、100 ℓ の容積にすることが望ましい。

2. 光化学スモッグの生成機構

(1) 従来、米国 EPA の光化学スモッグの研究が、規制戦略の開発のために、余りにもオゾンに注目しすぎており、全体的な反応機構の解明、特に、複雑な有機汚染質の生成機構に十分なエネルギーをさいていたとは思えない。

これは重症被害問題だけでなく、眼の刺激の原因物質であるアルデヒドの生成をも軽視したやり方である。生成物の議論をするためには、物理化学者が好んでやるような、原因物質の消失速度の測定だけから反応機構を論ずるやり方だけでは想像の部分が多くなり過ぎる。以上のような反省から、生成物の生成速度から反応機構を論ずることに主眼を置くようにした。

(2) 光化学スモッグの生成反応は NO_2 の光分解によって生じた酸素原子によって開始されると考えられてきた。



しかし、湿度の高い、通常の大気中では NO_2 は水と反応して、その一部が亜硝酸となっている。亜硝酸は太陽光によって分解して、OH ラジカルを生じる。



OH ラジカルは酸素原子よりも炭化水素と速く反応するので、現在では NO から NO_2 への酸化反応は酸素原子よりはむしろ OH ラジカルの寄与が大きいと考えられている。そこで、本報告では酸素原子および OH ラジカルの反応の相違に注目しながら研究を進めた。

(3) 反応機構の観点からも、また大気汚染の観点からもベンゼン環の開環反応が極めて興味ある問題であるが、本報告では特に、キシレンについて研究した。開環反応の機構についてはシクロヘキサンのような脂肪族環状化合物の反応と比較しながら、検討する必要がある。

表1 芳香族炭化水素とその光酸化生成物

芳香族炭化水素	光酸化生成物
ベンゼン	フェノール
	ニトロベンゼン
トルエン	ベンズアルデヒド
	クレゾール
	硝酸ベンジル
	<i>m</i> -ニトロトルエン
	6-ニトロ- <i>o</i> -クレゾール
	2-ニトロ- <i>p</i> -クレゾール
エチルベンゼン	ベンズアルデヒド
	エチルフェノール
	アセトフェノン
	<i>m</i> -ニトロ-エチルベンゼン
	<i>p</i> -ニトロ-エチルベンゼン
	<i>o</i> -キシレン
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	
バイアセチル	
トルアルデヒド	
キシレノール	
ニトロキシレン (3.4, 2.3)	
ジメチルベンゾキノ	
<i>o</i> -メチルベンジルナイトレート	
ニトロキシレノール	

開環生成物

引用文献

- 1) Grosjean, D., "Ozone and other Photochemical Oxidants" p. 45, National Academy of Science, (1977)
- 2) 加藤龍夫, 文部省特定研究「空気成分および空気中に存在する物質の分析方法に関する研究」昭和51年報告書 p.10.
- 3) 加藤龍夫, 横浜国立大学環境科学研究センター紀要, 1 (1), p. 37 (1974).

B. 光化学二次汚染物質の培養細胞に及ぼす影響

清水不二雄（環境生理部）

光化学反応機構の解析、並びにその二次生成物の同定がすすむにつれて、それら二次生成物の生体に及ぼす影響に関する検索が企図された。当初から実験動物を対象として用いることは、何よりも実験条件の確立に付随して、施設面で大きな制約を受けることを始め、検索指標の模索等、検討を要する事項が数多い。そこでまず、生体への影響を検索する第一歩として、その簡便性、経済性は言うに及ばず、更には得られた結果のより詳細な解析が可能だと思われる培養細胞を用いることとした。培養細胞としては、ヒト子宮癌由来のHeLa S3細胞が選定された。これはヒト細胞系として古くから分離された細胞株で、種々の細胞生物学的研究にもっとも広く用いられているものである。この広汎な応用に由来する膨大なHeLa細胞に係るデータの蓄積は、得られる結果の解析に大きく寄与することが期待され、取り扱いが比較的容易である事と相まって、選定理由となった。更に用いる細胞種による感受性の差についても検討する目的で、WI-38細胞が用いられた。これはヒト胎児肺由来の正常2倍体細胞株である。一方のHeLa S3細胞が癌由来細胞であること、また大気汚染物質の標的臓器として、まず肺が考えられること等が、選定にあたって考慮された。

つぎに影響について検討する指標として、まず細胞の増殖と形態という極めて基本的な項目が取り上げられた。

1. トルエンと窒素酸化物の光酸化反応生成物の培養細胞の増殖に及ぼす影響

培地に溶解せしめて、その細胞増殖に及ぼす影響を検討した化合物は、反応物質のトルエン、二次生成物質のクレゾール、ベンズアルデヒド、ニトロトルエン、硝酸ベンジル、ニトロクレゾール及びそれらの異性体であった。トルエンは50～200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度域で、HeLa細胞に対してむしろ増殖促進作用を示した。二次生成物質は25～500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度域で増殖抑制作用を示した。それら化合物が、処理2日目で無処理の対照に比し、HeLa細胞の増殖を50%抑制する濃度を列記すると、*o*-クレゾール 163 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)、*m*-クレゾール 276、*p*-クレゾール 51、ベンズアルデヒド 80、*o*-ニトロトルエン 340、*m*-ニトロトルエン 260、*p*-ニトロトルエン 172、硝酸ベンジル 142、4-ニトロ-*m*-クレゾール 58、2-ニトロ-*m*-クレゾール 441、2-ニトロ-*p*-クレゾール 366であった。またWI-38細胞においてもほぼ同様の増殖抑制作用が認められた。

以上の結果にて、反応物質であるトルエンが、むしろ細胞増殖促進作用を示したことに比し、二

次生成物がおしなべて抑制作用を示した事は注目に値する。このことは、光化学反応により、元来毒性を持たない物質から、毒性を有する物質が生成されるに到る過程を示唆する事実として興味深い。

また、反応生成物質の化学構造と、抑制作用との間に密接な連関を見出すには到らなかったが、特に異性体間の抑制作用の強さに明らかな差異が認められたことは、抑制機構の解明に逆に大きなヒントを提供する事実だと思われる。

処理2日目と4日目のHeLa細胞の増殖率につき比較してみると、*o*-クレゾール、*p*-クレゾール、ベンズアルデヒド、および*m*-ニトロトルエンでは4日目の方が高くなり、その増殖抑制作用は低下し、細胞増殖の回復が認められた。しかし、*o*-ニトロトルエン、硝酸ベンジル、およびニトロクレゾールでは、処理4日目の増殖率の方が低くなり、その増殖抑制作用が、持続ないし強化されるものと思われる。

このように処理日数による抑制作用の変遷は、これら化合物がどのような過程を経て、影響を与えるに到るのか、を検討するうえで示唆に富む事実である。

2. トルエンと窒素酸化物の光酸化反応生成物のHeLa細胞の形態に及ぼす影響

ほとんどの化合物により細胞質の変性をもたらされた。また、*o*-クレゾール、*p*-クレゾール、*m*-ニトロトルエン、および硝酸ベンジルにおいて、多核細胞の出現が認められた。

このようにして増殖の抑制により示された「毒性」の存在を、形態的にも裏づけをすることが出来た。また例えばDNA合成阻害剤が多核細胞の出現を促すという事実と、1:1に対応しないまでも、形態変化を詳細に追究することは、その作用機序が既知の薬剤がもたらす形態変化と比較検討することにより、問題としている物質の作用機序について、少なからぬ情報が得られる可能性につながるものと思われる。

最後に、今後検討を要する問題としては、まず、今回の結果が、ガス状で検出される生成物質を溶液中に溶解させるという、現実にはそぐわない形で得られたものであるということがあげられよう。光化学反応チャンバーで生成される物質をガス状のまま、細胞毒性の検索に供すべく、目下、細胞暴露チャンバーの製作が検討されている。

つぎに、今回は増殖と形態という二点に着目して影響を検討したが、酵素類の活性のチェックを一例とするとき生化学的アプローチを始め、より多くの指標を用いることにより、その影響機序の解明をはかる必要がある。そのことが、とりもなおさず、培養細胞を用いることの有益性を高めることになろうし、生体への影響を検討するに際して、より多くの示唆を与えることになろう。

研究発表

(講演)

- (1) Akimoto, H., Hoshino, M., Inoue, G., Okuda, M. and Washida, N., NO₂ Catalyzed Photooxidation of Toluene in the Gas Phase, The Japan-U.S.A. Seminar on Catalytic NO_x Reactions, Susono, November, 1975.
- (2) 秋元 肇・井上 元・奥田典夫・星野幹雄・鷺田伸明：パイレックス製スモッグチャンバーによるトルエン/NO₂/空気系での光酸化反応. 光化学討論会, 東京. (50. 11)
- (3) 井上 元・奥田典夫・星野幹雄・鷺田伸明・秋元 肇：トルエン/NO₂/空気系でのトルエンの光酸化反応機構. 日本化学会第34回春季年会, 東京. (51. 4)
- (4) Akimoto, H., Hoshino, M., Inoue, G., Okuda, M. and Washida, N., Photooxidation of Toluene-NO₂-O₂-N₂ System in Gas Phase, 12th Informal Conference on Photochemistry, Gaithersburg, June, 1976.
- (5) Akimoto, H., Hoshino, M., Inoue, G., Okuda, M. and Washida, N., Photooxidation of the Toluene-NO₂-O₂-N₂ System in a Small Smog Chamber, Proceedings of International Conference on Photochemical Oxidant Pollution and Its Control, EPA-600/3-77-001a (1977).
- (6) 星野幹雄・鷺田伸明・秋元 肇・井上 元・奥田典夫：NO_x, 空気存在下でのO, OH - トルエンの反応機構. 光化学反応討論会, 福岡. (51. 10)
- (7) 星野幹雄・秋元 肇・井上 元・奥田典夫・鷺田伸明・長沢克己・臼井義春：トルエン-HNO₂-NO_x-O₂/N₂系の光化学反応生成物. 大気汚染研究全国協議会第17回大会, 横浜. (51. 11)
- (8) 秋元 肇：小型スモッグチャンバーによる窒素酸化物, 炭化水素系の酸化反応機構の研究. 国立公害研究所大型研究施設竣工記念講演会およびシンポジウム, 筑波. (52. 2)
- (9) 鷺田伸明・井上 元・秋元 肇・奥田典夫：炭化水素-NO-Air系での光化学反応における各種炭化水素のNO酸化能力, 日本化学会第36回春季年会, 東大阪. (52. 4)
- (10) 高木博夫・鷺田伸明・秋元 肇・奥田典夫：オルト, メタ, パラ-キシレンのNO/H₂O/空気系での光酸化, 大気汚染研究全国協議会第18回大会, 福岡. (52. 11)
- (11) 鷺田伸明・高木博夫・秋元 肇・奥田典夫：光イオン化GC/MSの試作と有機化合物の測定, 第12回有機化合物のマスマスペクトロメトリー討論会, 東京. (52. 11)
- (12) 白石不二雄：トルエンと窒素酸化物の光化学反応生成物質の培養細胞に及ぼす影響 I. 増殖に及ぼす影響, 第19回大気汚染学会, 札幌. (53. 9)

(印 刷)

- 1) 奥田典夫：ガスマス法による芳香族炭化水素の分析，文部省特定研究「空気成分および空気中に存在する物質の分析方法に関する研究」昭和49年度報告書，p. 26.
- 2) 奥田典夫：ガスマスによる芳香族炭化水素およびアルデヒドの研究，同上。昭和50年度報告書，p. 29.
- 3) 奥田典夫・鷺田伸明・星野幹雄：ガスクロマトグラフ質量分析計による大気中の芳香族化合物の分析，同上。昭和51年度報告書 p. 119.
- 4) Hoshino, M., Akimoto, H. and Okuda, M., "Photochemical Oxidation of Benzene, Toluene, and Ethylbenzene Initiated by OH Radicals in the Gas Phase". Bull. Chem. Soc. Jpn., **51**, 718 (1978).
- 5) Washida, N., Inoue, G., Akimoto, H. and Okuda, M., "Potential of Hydrocarbons for Photochemical Conversion of NO to NO₂". Bull. Chem. Soc. Jpn., **51**, 2215 (1978).
- 6) Washida, N., Akimoto, H., Takagi, H. and Okuda, M., "Gas Chromatography/Photoionization Mass Spectrometry". Anal. Chem., **50**, 910 (1978).
- 7) Akimoto, H., Hoshino, M., Inoue, G., Okuda, M. and Washida, N., "Reaction Mechanism of the Photooxidation of the Toluene-NO₂-O₂-N₂ System in the Gas Phase". Bull. Chem. Soc. Jpn., **51**, 2496 (1978).

III

今後の研究の方向

秋元 肇 (大気環境部)

本報告書のIにも紹介されているように、我が国においては光化学スモッグによる多くの急性健康被害が報告されている¹⁾にもかかわらず、それらと原因物質との関連づけは、オゾンについて以外はまだまだほとんどなされていない。この点に関して従来いくつか行われてきた議論は、既知の大気汚染物質、毒性物質の非常に高濃度における毒性データとの比較による類推、もしくは気象要素(風向き、温湿度等)をパラメーターとした発生源との相関による推測がほとんどであった。これらの類推、相関に基づいた議論は、一種の情況証拠であり、何に目をつけて研究すべきかについての大きな手がかりとはなるが、影響との関係ではあくまでスペキュレーションにすぎない。しかし逆に現在得られている情況証拠は、我が国において経験された「いわゆる光化学スモッグ」による健康被害¹⁾は、光化学大気汚染によって生成された二次汚染物質によってもたらされたものであることを強く示唆している。更にまた、最近のSO₂、NO₂等の排出規制の強化によって、今後の都市型大気汚染の健康影響は、それら一次汚染物質単独の直接的影響より、むしろそれらから生成する光化学二次生成物を介した影響の比重が、相対的に増大するものと思われる。

これらのことを考えた時、現時点での光化学大気汚染研究の急務のひとつは、そのような影響と光化学スモッグ中の化学物質との対応を、情況証拠によるスペキュレーションではない因果関係として確立することにあると思われる。もちろん最終的に光化学スモッグ中の化学物質と人間の健康影響との対応関係の確立に到るまでには、種々のレベルの生体を用いた研究段階が必要であろうが、各レベルにおける因果関係を科学的にきっちりさせること自体、学問的に大きな意義があり、また最終目標への確実な一里程であると考えられる。本研究はこのような考え方にたって、まず光化学大気汚染の一つのモデル反応系について生成する光化学二次生成物質の同定、定量を行い、次にその個々の化合物について培養細胞の増殖抑制試験を行うという形で、研究を開始したものである。今回その第1回の報告書をまとめる段階にあたって、今後の研究の発展方向についての考察を行って見た。

光化学スモッグ中の二次汚染物質のように非常に多成分から成る混合物質の毒性研究を行う方法としては、大きく分けて二つのアプローチの仕方があるものと思われる。ひとつはまずある反応系についての成分分析、同定を行い、同定された個々の化合物についてその毒性試験を行う方法である。もうひとつの方法は、ある反応系についての光化学反応混合物をそのまま毒性試験の試料とし

て供する方法である。本研究で採用した方法は前者の方法であり、この方法の最大の利点は各化学物質とその生体影響の対応が最初からはっきりしているので、実験データの解釈に余分な不明確さの入り込む余地がない点にある。また一般に新しい研究を始める場合、単純な系から実験を開始して実験方法を確立するのが研究の常道であろう。そのかわりこの方法で実際の光化学スモッグの毒性を正しく評価するためには、光化学二次生成物の棚下ろしは完全でなければならず、もし非常に毒性の強い物質が分析にひっかかっていない場合には、全体の評価を誤らせるおそれがある。また各種二次生成物質の相乗作用についての研究は、膨大な数の組み合わせについて実験を行わなければならないであろう。

これに対し、第2の方法の利点は、例えばトルエン-NO₂系といったある特定の反応系の光化学二次生成物全体の毒性を直接評価できる点にある。従って例えば初期濃度の等しい各種炭化水素-窒素酸化物の組合せについて光化学反応を行い、その反応混合物をそのまま試料として毒性試験を行えば、各種炭化水素のいわば光化学毒性ランキングのようなものを得ることができるはずである。このようなアプローチの仕方で行われている研究に、各種炭化水素の「眼刺激ランキング」の研究²⁾がある。この研究は人間の志願者を用いて、一定初期濃度の各種炭化水素-窒素酸化物の混合物の光化学反応を行い、その反応混合物について眼刺激試験を行ったものであるが、芳香族炭化水素（アルキルベンゼン類）ではオレフィン類より眼刺激が一段と強いというような興味ある結果が得られている。この方法を用いれば、炭化水素-窒素酸化物系にSO₂が加わった場合の毒性の変化、エアロゾルの影響なども比較的容易に評価できるのではないと思われる。

そのかわりこの方法によって得られた実験データの学術的評価は、反応混合物の化学組成に関する情報がどの程度得られているかによって大きく左右される。すなわち同一初期濃度の反応物について光照射実験を行った場合でもある一定時間照射後の反応混合物の組成は、光量、波長分布その他の実験パラメーターによって大きく異なるので、もし光化学二次生成物の組成について何もわかっていないとしたら、この実験データは他の研究室で再現不可能であり、科学的データとは認め難いことになる。そこで、この種の実験ではオゾンの他に有機化合物の組成をどこまで押えられるかが実験技術上のキーポイントとなり、実験データからどの程度決定的な結論を導き出せるかの決め手となるものと思われる。

光化学スモッグ中で生成すると思われる光化学二次生成物の同定、分析は、ガス状物質についても、エアロゾルについても、残念ながら現在まだ非常に不完全である。従ってこのような時点で、光化学スモッグの毒性について、より正確な評価を確立するためには、本研究においても今後、上の第2のアプローチの仕方を積極的に組み入れなければならないのではないと思われる。すなわち本研究では今まで、環境生理部において、光化学二次生成物質の各々単品を培養液中に溶解して、それら個々の化学物質の細胞毒性試験を行う方法を採用してきたわけであるが、今後なるべく早い機会に光化学反応混合物全体をガス状のまま培養細胞に暴露してその毒性を評価するような実験を

スタートさせるべきであろうと考えられる。

このような実験に用いられる暴露用光化学チャンバーがいかなる型のものであるべきかについては、確立された仕様はないと思われるが、キーポイントは前に述べた様に光化学反応生成物の同定、定量をどこまで正確に、しかも効率よく行えるかにかかっている。この点に関しては、大気環境部における過去1年半の大型光化学スモッグチャンバー実験の経験から、長光路フーリエ変換赤外分光器が有機化合物、無機化合物を問わず、そのような光化学二次生成物質の同定、定量に極めて有力であることが実証されている³⁾。すなわちフーリエ変換赤外分光器は原則的には赤外領域に吸収帯をもつ全ての物質について測定可能であり、吸収スペクトル間の演算が可能であるので、従来の赤外分光器では測定の困難であった吸収の重なる二種以上の化合物が共存する場合にも多くの場合定量可能である。もちろん実際の野外大気のように、余りに多くの類似化合物を含む場合にはこの方法で測定可能な汚染物質の種類は極く限られたものとなるが、本研究で考えられているような各々の炭化水素から生成する光化学反応混合物のような場合には、この方法は最もその威力を発揮するものと考えられる。

これらのことから、本共同研究の今後の方向としては、長光路フーリエ変換赤外分光器を組み込んだ小型光化学反応チャンバーと、急性毒性試験用の小型の細胞暴露室を直結したような型の新しい実験装置を作製し、光化学二次生成物の定量を行った上で反応混合物の細胞毒性試験を行うような方向が提案される。このような方法と従来の方法に基づいた個々の二次生成物質ごとの細胞毒性試験を並行して行うことにより、光化学スモッグの毒性に関するより科学的なデータが得られるものと期待される。そのような両者の毒性データの比較は、また逆に光化学スモッグ中の新しい有害二次生成物質を同定、検出する大きな手がかりを与えてくれるものと期待してよいだろう。

環境生理部と大気環境部の間での共同研究が、ささやかながら緒につき、その最初の報告書をまとめる段階になって、光化学スモッグ、光化学大気汚染、光化学オキシダント、光化学二次汚染物質、光酸化反応生成物、といった言葉に対する、定義ないしは意味合いが人によって大分違っていろいろらしいことが改めて話題となった。これは単に当研究所内の問題ではなく、マスコミ等を通じてかなりの社会的広がりをもった問題であり、現在の我が国の典型的な都市大気汚染に対する基本的認識にもかかわる問題であると思われるので、本共同研究を今後進めるにあたって、言葉の使い方ははっきりさせておきたい。

「光化学大気汚染」とは発生源から排出された一次汚染物質が、太陽光による光化学反応によって大気中で二次生成物に変換する現象全体を指すものと定義される。これに対し、「光化学スモッグ」とは、そのような光化学大気汚染によってもたらされるスモッグ状態に着目して命名された呼名で、光化学エアロゾルのような可視物質を指標としているようにも思えるが、一般にはオゾン、その他の目に見えないガス状物質を含めて包括的に呼んでいる。エアロゾル、すなわちいわゆるス

モッグを伴わないで、ガス状物質のみを生成する光化学大気汚染現象というものも理論的にはあり得るわけであるが、現実の光化学大気汚染は常にスモッグを伴っており、この意味では光化学汚染大気と光化学スモッグは同意義語である。

ところが問題は「光化学スモッグ」＝ロサンゼルススモッグ＝（自動車排気ガス＋太陽光）という図式が、一部に概念化されている点にある。このため例えば我が国で、ロサンゼルス盆地では見られない健康被害がみられたことから、これは「本当の」光化学スモッグとは異なるという言い方になり、「いわゆる光化学スモッグ」、「東京スモッグ」、かっこ付きの“光化学スモッグ”，というような用語が広く用いられてきている。ちなみに、本報告書の【でも引用されている 我が国における光化学スモッグの急性被害症状について報告している三上氏の学術論文¹⁾の題目は、「病態：いわゆる光化学スモッグの臨床」である。これは我が国における光化学スモッグの健康被害の手本が諸外国になかったために起こった混乱で、過去においてはやむを得なかった面もあると思われるが、最初のエピソード以来既に8年を経過した現時点では、認識を整理しなおす必要があると思われる。

光化学大気汚染は、燃焼過程で生成する窒素酸化物（NOおよびNO₂）が何らかの形で大気中に排出されるような、全ての工場地帯および都市において見られる極めて普遍的現象である。なぜなら大気中に窒素酸化物が存在すれば、その内のNO₂と大気中で生成する亜硝酸（HNO₂）が太陽光による光分解を受け、必ず大気中の光化学反応が開始されるからである。しかし結果としてもたらされる光化学スモッグの様相は、共存する他の汚染物質濃度によって一般に非常に異なるものと考えられる。すなわち、共存する炭化水素の種類、炭化水素以外のある種の有機化合物の存在、亜硫酸ガス（SO₂）の存在、アンモニア（NH₃）等その他の無機化合物の存在、等はいずれも光化学スモッグの現れ方、およびその中味に大きな変化をもたらすであろう。このことは例えば東京湾地域、大阪湾地域のような多様な汚染源をもつ地域では、各種排出源からの汚染ガスの混合の仕方によって光化学スモッグの中味が変わってくることを意味し、当然我が国とロサンゼルスとは光化学スモッグの化学組成も健康影響も異なってくることを意味している。

一般に、光化学二次汚染物質には通常「光化学オキシダント」と呼ばれる、ヨウ化カリウム溶液からヨウ素を遊離させるような物質以外に、大気中の炭化水素その他の有機化合物の光酸化反応で生成する非常に多くの種類のガス状物質、およびエアロゾルが含まれる。現在大気中に存在の実証されている光化学オキシダントはオゾン（O₃）とパーオキシアセチルナイトレート（PAN）およびその同族体の2種類にすぎない。同じく大気中で検出されているアルデヒド類、クレゾール類、硝酸エステル類等は光化学オキシダントの範疇には入らず、また光化学エアロゾルも一般に光化学オキシダントではない。光化学スモッグの社会的報道を通じて光化学オキシダントという言葉が広く定着したために、光化学スモッグ中の二次生成物質を総称して、例えば「光化学オキシダントの健康影響」というようないい方がなされる場合があるが、学術用語としては厳密さに欠けるので避

けるべきであろう。そのような光化学スモッグ中の二次生成物質を総称する場合には光化学二次生成物質、もしくは光化学二次汚染物質と呼ぶのが適当であろうと思われる。これに対して、本報告書の標題に用いられている光酸化反応生成物という呼び名は、光化学大気汚染中の化学反応を炭化水素などの有機化合物の光酸化反応としてとらえた場合の言い方で、反応生成物の内、主に有機化合物に着目して用いられたものである。

今後の共同研究が「いわゆる光化学スモッグ」の「いわゆる」を取り除く上での一歩となれば幸である。

引 用 文 献

- 1) 三上理一郎, 日胸疾会誌, 11, 723 (1973).
- 2) (a) Altshuller, A.P., Bufalini, J.J., Environ. Sci. Technol., 5, 39 (1971).
(b) Heuss, J.M., Glasson, W.A., Environ. Sci. Technol., 2, 1109 (1968).
- 3) (a) Akimoto, H., Hoshino, M., Inoue, G., Sakamaki, F., Bandow, H., Okuda, M., "Formation of Propylene Glycol 1,2-Dinitrate in the Photooxidation of Propylene-Nitrogen Oxides-Air System", J. Environ. Sci. Health. (in press).
(b) Hoshino, M., Akimoto, H., Inoue, G., Sakamaki, F., Okuda, M., Ogata, T., "Gas Phase Reaction of N_2O_5 with Propylene", submitted to Chem. Lett.

IV-1

気相におけるトルエン-NO₂-O₂-N₂系の
光酸化反応機構の研究*

Reaction Mechanism of the Photooxidation of the
Toluene-NO₂-O₂-N₂ System in the Gas Phase*

秋元 肇¹・星野幹雄^{1,2}・井上 元¹
奥田典夫¹・鷺田伸明¹

Hajime AKIMOTO¹, Mikio HOSHINO^{1,2}, Gen INOUE¹,
Michio OKUDA¹ and Nobuaki WASHIDA¹

要 旨

内容積67dm³のパイレックス製反応容器を用いて、トルエン(34ppm)-NO₂(8-207ppm)-空気(1気圧)系の光酸化反応について研究を行った。反応はNO₂光分解によって生成する酸素原子O(³P)によって開始されると考えられる。主生成物はベンズアルデヒド、クレゾール、硝酸ベンジル、*m*-ニトロトルエン、6-ニトロ-*o*-クレゾールおよび2-ニトロ-*p*-クレゾールであった。反応物濃度を変化させた場合のこれら生成物の相対収量の変化について研究し、その結果からNO₂およびO₂存在下でのトルエンとO(³P)およびOHラジカルの反応に基づいた、上記生成物の生成機構を提唱した。

Abstract

Photooxidation of the toluene (34 ppm)-NO₂ (8-207 ppm)-N₂ and/or O₂ (1 atm) system has been studied in a 67 dm³ reaction chamber. The reaction was initiated by O(³P) atoms formed in the photolysis of NO₂. The main products were benzaldehyde, cresols, benzyl nitrate, *m*-nitrotoluene, 6-nitro-*o*-cresol and 2-nitro-*p*-cresol. Their relative yields were studied as functions of reactant concentrations. The formation mechanisms of the products were proposed on the basis of the reactions of O(³P) and OH radicals with toluene in the presence of NO₂ and O₂.

* 本論文の要旨は英文にて下記雑誌に発表。

Essence of this paper has been published in English in; Bull. Chem. Soc. Jpn., 51, 2496 (1978).

1. 国立公害研究所 大気環境部 〒300-21 茨城県筑波郡谷田部町

The National Institute for Environmental Studies, Division of Atmospheric Environment,
P.O. Yatabe, Ibaraki, 300-21.

2. 現住所：理化学研究所, 〒351 埼玉県和光市広沢2-1

Present address: The Institute of Physical and Chemical Research, Wako-shi, Saitama, 351.

緒 言

芳香族炭化水素、特にアルキルベンゼン類は有機溶剤および自動車排気ガス中の成分として大気中に多量に排出され、飽和炭化水素、オレフィン系炭化水素と共に我が国の汚染大気中に比較的高濃度に存在する¹⁾。従来光化学大気汚染現象においてはオレフィン系炭化水素が、反応に主要な役割を果しているものとして注目されてきたが、特に我が国においてはアルキルベンゼン類の内の、トルエン、キシレン、エチルベンゼン等はそれらの大気中濃度および大気中での相対的光酸化反応速度(いわゆる「光化学反応性」)²⁾を考慮した場合、オレフィン系炭化水素に匹敵する役割を果していることが予想される。

アルキルベンゼン-窒素酸化物(NO_x)-空気系の光酸化反応については、光化学大気汚染に関連していくつかの研究がなされている³⁻⁷⁾が、それらの研究の多く⁴⁾はオゾン生成および光酸化反応速度に関するものである。アルキルベンゼン類の光酸化反応はオレフィン類のそれに比して一般に複雑であると考えられ、特に反応生成物および反応機構に関する研究は非常に少ない。

Kopeczynski⁵⁾はアルキルベンゼン類- NO_2 -空気系の光酸化反応を長光路赤外分光器を用いて研究し、アルデヒド類、 CO 、 CO_2 、ギ酸、およびパーオキシアセチルナイトレートを生成物として同定している。Nojima ら⁶⁾はベンゼン- NO_2 -空気系におけるニトロベンゼン、ニトロフェノール、およびジニトロフェノールの同定を行い^{6a)}、又ベンゼン、トルエン、キシレンの光酸化反応でベンゼン環開裂によると思われる、グリオキサール、メチルグリオキサールおよびピアセチルの生成を報告している^{6b)}。Watanabe ら^{7a)}、および Ishikawa ら^{7b)}はそれぞれベンゼン- NO_2 - O_2 - N_2 系、およびトルエン- NO_2 - O_2 - N_2 系において、 O_2 濃度を变化させて反応生成物の生成量の変化を調べ、反応機構について議論を行っている。また、加藤ら⁸⁾はトルエン、キシレン、エチルベンゼン- NO -空気系反応生成物についてのGC-MSによる同定を報告している。

大気中におけるアルキルベンゼン類の光酸化反応はOHラジカルおよびO原子によって開始されると考えられる。本研究⁹⁾においてはトルエン(34ppm)- NO_2 (8-207ppm)-空気(1気圧)系の反応について研究を行った。この系では NO_2 光分解によって生成するO原子が反応を開始し、反応生成物の多くの部分をもたらすと考えられる。本報では反応生成物の同定、および反応物濃度を变化させたときのそれらの相対収量について報告し、反応機構の議論を行う。

他方OHラジカルによって開始されるアルキルベンゼンの光酸化反応については、別報¹⁰⁾でベンゼン、トルエン、エチルベンゼン- HNO_2 -空気系の研究結果を報告する。

実 験

図1に本研究で使用された実験装置の概要を示す。反応容器は内径225mm、長さ1660mm、容積67dlのパイレックス製円筒で、両端は厚さ20mmのパイレックス窓が金属製フランジを介して取り付けられている。金属部の内壁は全金属表面での接触反応を防ぐためPFA Mコート(テトラフルオロエ

チレン-パーフロアルキルビニルエーテル共重合体、日建塗装工業)で被覆されており、気体導入管、排気管はこの金属部に接続されている。反応容器は高真空排気可能型で、拡散ポンプ油による汚染を避けるため、排気にはオイルフリーのソーブションポンプ、チタンゲッターポンプ、およびスパッターイオンポンプより構成される排気系(日本真空技術㈱、モデル YD-21)が用いられた。

光源としては 500 W 高圧キセノンアークランプを使用し、ランプからの光は楕円鏡、レンズ、軸はずし放物面鏡によって、光径約 200 mm の近似平行光束とした後、上記パイレックス窓を通じて試料気体に照射された。パイレックス窓を通した照射光の波長は 320 nm より長波長に分布していることがわかった。また、 NO_2 の初期光分解速度、 k_1 で表した反応容器内の有効光強度は 0.08 min^{-1} であった。光学系を含めた光源のランプハウスは山田光学㈱製のものをを用いた。

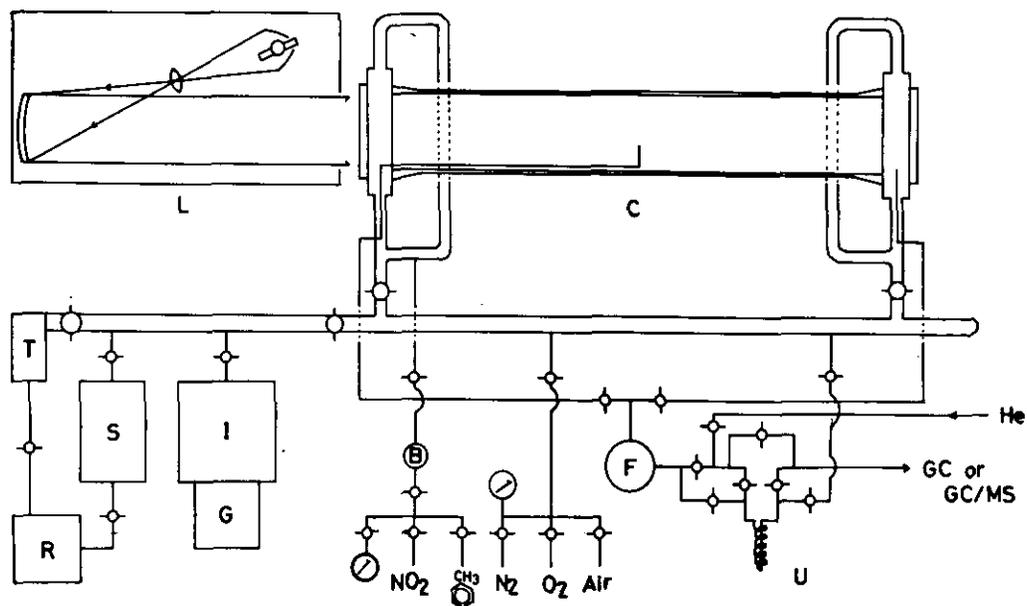


図1 実験装置の概要図。C-反応チャンバー；L-キセノンアークランプハウス；I-スパッターイオンポンプ；G-チタンゲッターポンプ；S-ソーブションポンプ；T-フォアライントラップ；R-油回転ポンプ；B-ガスビュレット；F-試料採取用フラスコ；U-試料濃縮用トラップ

Fig. 1 Schematic diagram of the experimental apparatus. C-Reaction chamber; L-Xenon arc lamp house; I-Sputter ion pump; G-Titanium getter pump; S-Sorption pump; T-Foreline trap; R-Rotary pump; B-Gas Burette; F-Sampling flask; U-Low temperature spiral trap.

試料のトルエン（和光純薬工業，Research Grade，不純物キシレン約0.01%）および NO_2 は容積 105 ml のフラスコ内に採取，圧力測定後，反応容器内に拡散させ，更に純空気（露点 -70°C 以下）， O_2 ($> 99.9\%$ ，“純ガスB”) 又は N_2 ($> 99.995\%$ ，“純ガスB”) を用いて希釈，混合した。これらの気体は日本酸素^株製または高千穂化学工業^株製のものを用いた。 NO_2 は NO (Matheson, Research Grade) を過剰の O_2 と反応させて生成した。圧力の測定には 50 Torr および 760 Torr フルスケールのカプスロンゲージ (Edward High Vacuum Co. 製) を使用した。反応容器内の試料の混合が均一に行われていることを確認するために，試料採取管 (パイレックス管，外径 6 mm) は容器の中心，両端，および一方の端から容器全長の $\frac{1}{4}$ の長さの位置の 4 か所にとりつけた。試料導入後約 1 時間後には，これら 4 か所から採取されたトルエン濃度は等しいことが確認されたので，光照射はこの時点から開始した。光照射開始後は，ほぼ一定の時間間隔ごとに容器中央の採取管より試料を採取し，ガスクロマトグラフによる分析を行った。

分析にあたっては，まず反応混合物を真空排気させた容積 700 ml のガス溜りに採取した後，ガスクロ用濃縮管に試料を濃縮した。本研究では生成物の内トルエンよりも高沸点の化合物についての分析を目的としたので，濃縮管としては内径 2 mm，長さ約 4 m のパイレックス管をスパイラル状に巻いたものを，メタノール-液体窒素の冷媒で約 -60°C に冷却して使用した。濃縮管充填剤は用いなかった。試料濃縮後，濃縮管を沸騰水で温め，試料を気化させてキャリアーガスと共にガスクロマトグラフに直接導入した。この方法は濃縮管に充填剤を用いる方法，および濃縮管を液体窒素で冷却する方法に比べて，濃縮管内におけるトルエンおよび生成物クレゾールと NO_2 の暗反応を最小限に抑える方法として非常に有効であることがわかった。

分析に用いたガスクロ用カラムは 50% SE-30 (担体，シマライト W)，3 m，分析は 80°C から 200°C まで $4^\circ\text{C}/\text{min}$ の昇温条件で行った。生成物の同定は GC および GC-MS (日本電子, JMS-100) を用いて，保持時間および標準マスパターンとの比較によって行った。参照用マスパターンおよび保持時間を得るために，ベンズアルデヒド，*o*-, *m*-, *p*-クレゾール，硝酸ベンジル (ベンジルナイトレート)，*o*-, *m*-, *p*-ニトロトルエン，*o*-ニトロフェノール，および 2-ニトロ-*p*-クレゾールの標準サンプルを用いた。硝酸ベンジルを除く全ての試薬は市販 (和光純薬工業) のものを標準試薬として用いた。硝酸ベンジルの標準試料は，アセトニトリル中での塩化ベンジルと硝酸銀の反応混合物を分別蒸留することによって得られた。また 6-ニトロ-*o*-クレゾールの同定は，*o*-クレゾールと NO_2 の常温暗反応で得られた標準試料と GC 保持時間を比較することによって行われた。6-ニトロ-*o*-クレゾールのマスパターンは 2-ニトロ-*p*-クレゾールのものとほとんど等しかった。

いくつかの実験において，光照射中の NO_2 濃度のモニターを行った。方法としては反応容器の照射光出口窓の後にモノクロメーターおよび光電子増倍管を置き，光分解用照射光を光源に用いた単光路吸光光度法を用いた。測定波長は 450 nm で行い，吸光度から NO_2 濃度を算出した。また

HNO₂ - NO_x - トルエン - 空気系の実験の場合には既知量のトルエンおよび NO₂ を反応容器内に導入後、HNO₂ - 空気混合物を導入して全圧を1気圧とした。HNO₂ - 空気混合物は 0.05 M - NaNO₂ 10ml, 5% H₂SO₄ 10ml を反応させることによって得られ¹⁰⁾, Cox¹¹⁾ の方法によって混合物中の HNO₂, NO_x 濃度の測定を行った。HNO₂ の発生方法, 濃度測定方法については本報告書の次報(報文2)にくわしく述べられる。この方法で発生させた HNO₂ - 空気混合物中の濃度は HNO₂ 約12ppm, NO, NO₂ それぞれ約2ppmであった。

結 果

トルエン (34ppm) - NO₂ (8 - 207ppm) - 空気 (1気圧) の系の光酸化反応主生成物はベンズアルデヒド, クレゾール, 硝酸ベンジル, *m*-ニトロトルエン, 6-ニトロ-*o*-クレゾールおよび2-ニトロ-*p*-クレゾールであった。また少量生成物として*o*-ニトロフェノールおよび*o*-, *p*-ニトロトルエンの生成が確認された。これらの生成物のほとんどは加藤ら⁸⁾, Ishikawaら^{7b)}によっても報告されている。これら生成物の内, 硝酸ベンジルおよびニトロクレゾール類を除く物質の標準マスパターンは Stenhagenら¹²⁾のデータ集に記載されており, 本研究で得られたパターンはそれらと良く一致した。同書に与えられていない硝酸ベンジルおよび2-ニトロ-*p*-クレゾールのマスパターンを図2(a), (b)に示した。6-ニトロ-*o*-クレゾールのマスパターンは2-ニトロ-*p*-クレゾールのものとほとんど同じであった。図2に示した両物質は共に分子量153であるが, そのマスパターンは硝酸ベンジルではフェニルイオンの *m/e* 77のピークが最も強いものに対して, ニトロクレゾールでは親ピークが最も強いのが大きな特徴である。

o-クレゾールは, 生成物の全クレゾールの内の約80%を占め, *m*-, *p*-クレゾールは合わせて約20%であった。本研究に用いたGCカラムでは*m*-クレゾールと*p*-クレゾールは分離されなかった。図3にはトルエン (34ppm) - NO₂ (7.7ppm) - 空気 (1気圧) 系における生成物の生成量の時間変化を示す。本研究では生成物分析は反応率1%以下の低反応率の条件下で行われた。このような条件下では生成物の生成量は図3にみるように, 照射時間と共に直線的に増加することがわかったので, 各生成物の生成比は直線の傾きの比から計算した。

反応機構の解明のために O₂ および NO₂ の初期濃度を変化させた実験を行った。図4は種々の NO₂ 初期濃度の下で O₂ の分圧を変化させたときのベンズアルデヒド対クレゾールの生成比を示す。これらの実験では N₂ を緩衝気体として全圧は全て760Torrに固定した。O₂ が存在しない場合(トルエン - NO₂ - N₂系)にはベンズアルデヒドは生成せず, クレゾールが主生成物であり, その他にニトロクレゾールが微量生成した。同一の NO₂ 初期濃度に対して O₂ が存在しない場合には, トルエン - NO₂ - 空気系に対してニトロクレゾールの生成量は著しく少なかった。図4にみるように, ベンズアルデヒドとクレゾールの比は O₂ の分圧の増加と共に増加し O₂ の分圧, 数100

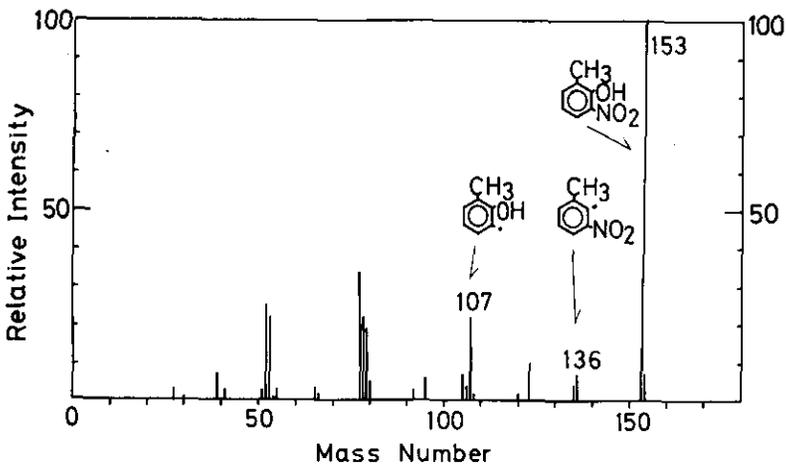
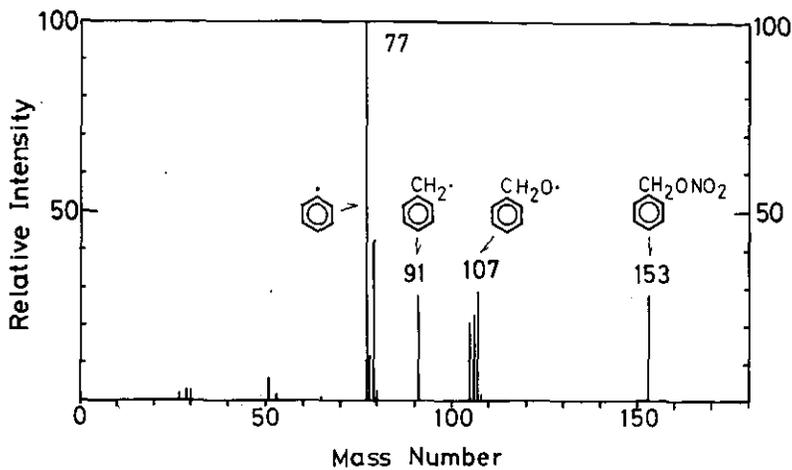


図2 (a)硝酸ベンジル, (b)2-ニトロ-p-クレゾールのマススペクトル
 Fig. 2 Mass spectrum of (a) benzyl nitrate, and (b) 2-nitro-*p*-cresol.

Torr 以上で一定値に近づくことがわかる。

図5に示すように、ニトロクレゾール(6-ニトロ-*o*-クレゾールと2-ニトロ-*p*-クレゾールの和)とクレゾールの生成比は NO_2 の濃度と共に増加する。図5にはクレゾールおよびニトロクレゾールの和に対するベンズアルデヒドの生成比を NO_2 の光平衡濃度の関数として示した。空気1気圧の系では450nmにおけるUV吸収で測定された NO_2 濃度は、光照射後約20分後に光平衡状態に達し、その後光照射終了までほぼ一定の値を保った。 NO_2 の光平衡濃度は初期濃度の

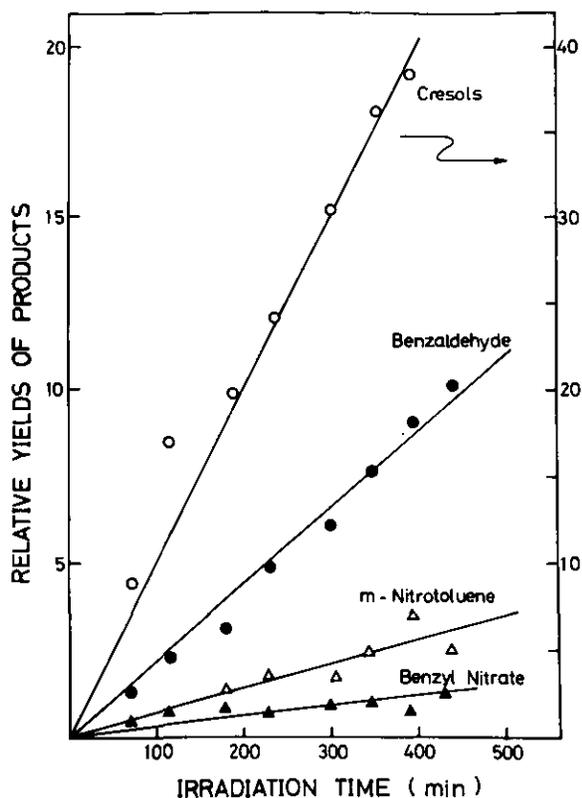


図3 トルエン (34ppm) - NO₂ (7.7 ppm) - 空気 (1気圧) の系における, 生成物の時間変化

Fig. 3 Relative yields of the products vs. irradiation time in the photooxidation of NO₂ (7.7 ppm)-toluene (34 ppm)-air (1 atm.) system.

約50%であった。

図6に示すように, クレゾール, ニトロクレゾールの和に対するベンズアルデヒドの生成比は NO₂ 濃度によらず一定である。従って他の生成物の生成量も, クレゾールとニトロクレゾールの生成量の和を1.0にとって表すのが妥当であろうと思われる。このようにして表された相対生成量のデータを表1に示した。

硝酸ベンジルとベンズアルデヒドの生成比は図7に示すように NO₂/O₂ の濃度比と共に増加した。これに対し図8に示すように, *m*-ニトロトルエンの相対収量は NO₂ の初期濃度の増加と共に減少した。ニトロ化合物のひとつである *m*-ニトロトルエンの生成量が NO₂ 濃度と共に減少するというこの結果は注目すべき事実であろう。ほぼ同等の NO₂ 初期濃度に対して, NO₂-トルエン-空気系における *m*-ニトロトルエンの相対収量を, HNO₂-NO_x-トルエン-空気

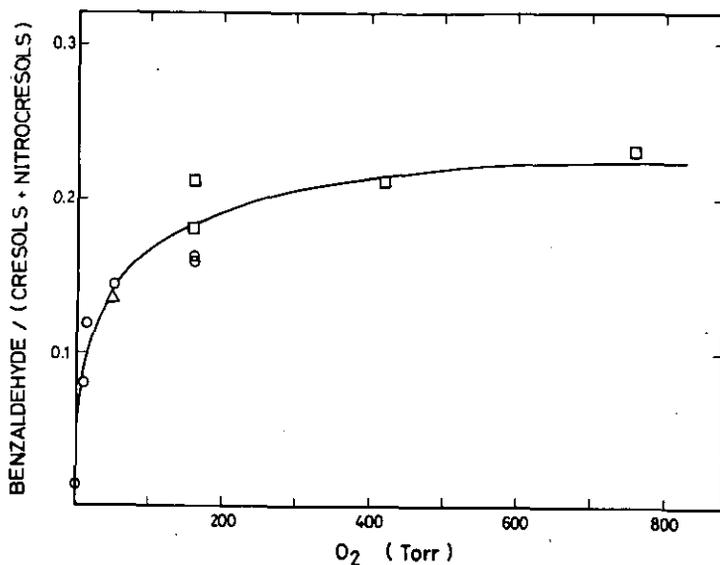


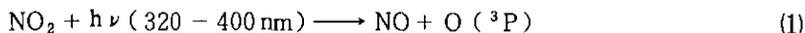
図4 クレゾールとニトロクレゾールの和に対する、ベンズアルデヒド生成比の O₂ 分圧依存性。トルエン, 34ppm; NO₂, 6.4 (Δ), 24 (○), 30ppm (□); 全圧 (O₂/N₂), 760 Torr

Fig. 4 The formation ratio of benzaldehyde to the sum of cresols and nitrocresols vs. partial pressure of O₂ in the photooxidation of NO₂-toluene (34 ppm)-O₂-N₂ (1 atm.) system. Initial concentration of NO₂ are Δ 6.4, ○ 24 and □ 30 ppm.

系における相対収量とを比較するために、HNO₂(12ppm) - NO₂(15および25ppm) - トルエン (34ppm) - 空気 (1気圧) 系の光照射実験を行った。図9に結果を示した。図中の HNO₂ 系における NO₂ 低濃度 (2 ppm以下) 領域の点は、別報 (本報告書, 報文2) 中のデータを同時にプロットしたものである。

考 察

クレゾールとニトロクレゾールの生成機構 本研究においては照射光波長は 320 nm より長波長であり、この領域ではトルエンの光吸収はないので、NO₂ - トルエン - O₂ - N₂ 系の光酸化反応は NO₂ の光分解反応:



で生成される O (³P) 原子によって開始されるものと思われる。O (³P) とトルエンの反応は N₂O - トルエン系の水銀光増感反応についていくつかの研究¹³⁻¹⁵⁾ がなされている。主生成物としてはクレゾール, CO であり, 少量生成物としてフェノール, メタン, エタン, その他大量のポリマーの生成が報告されている。生成するクレゾールの異性体組成に関しては研究者によって異なる。

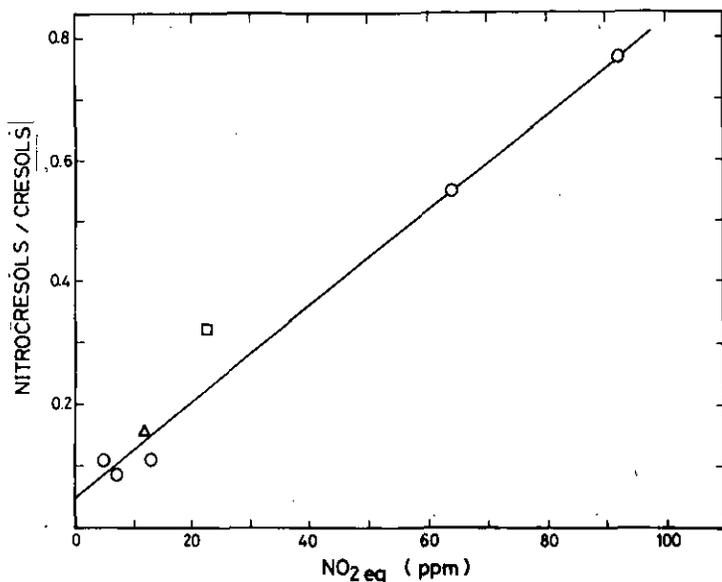


図5 ニトクロズール対クロズール生成比の NO₂ 濃度依存性。トルエン, 34ppm; O₂ 分圧, 160 (○), 418 (△), 760 Torr (□); 全圧 (O₂/N₂), 760 Torr

Fig. 5 The formation ratio of nitrocresols to cresols vs. equilibrium concentration of NO₂ for the NO₂-toluene (34 ppm)-O₂-N₂ (1 atm.) system. Partial pressure of O₂ are ○ 160, △ 418 and □ 760 Torr.

った値が報告されており, 全クロズール中の *o*-クロズールの割合は, 64% (Jones と Cvetanović¹³), 78% (Grovenstein と Mosher¹⁴) および 94% (Gaffney ら¹⁵) 等となっている。本研究における NO₂-トルエン-O₂-N₂ 系の光酸化反応では O₂ が存在する場合, 存在しない場合共, クロズールが主生成物であり (表1 参照), いずれの場合にもクロズール中の 80% 以上は *o*-クロズールであった。全クロズール中の *o*-クロズールの割合は Gaffney ら¹⁵ の結果に近く, これらの結果から NO₂-トルエン-O₂-N₂ 系におけるクロズールの生成は主として O(³P) とトルエンとの反応によるものと考えられる。この反応は Jones と Cvetanović¹³ によって示唆されているように, 中間体としてピラジカルを経由して進行するものと思われる。



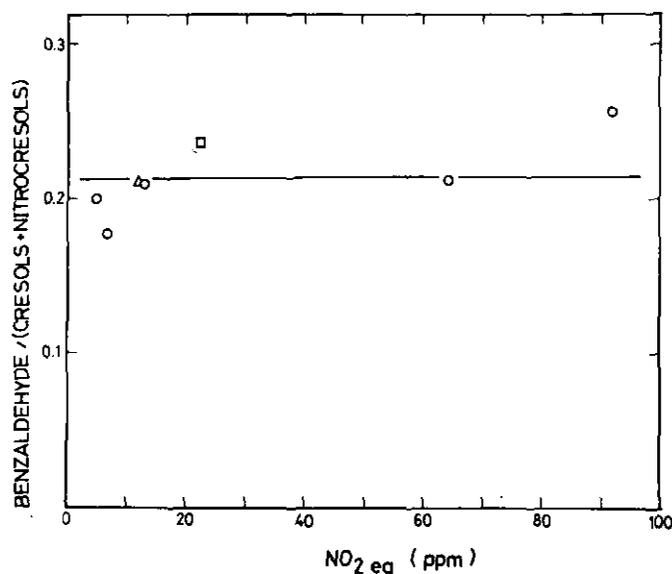


図6 クレゾールとニトロクレゾールの和に対するベンズアルデヒド生成比のNO₂濃度依存性。トルエン, 34ppm; O₂分圧, 160 (○), 418 (△), 760 Torr (□); 全圧 (O₂/N₂), 760 Torr

Fig. 6 The formation ratio of benzaldehyde to the sum of cresols and nitrocresols vs. equilibrium concentration of NO₂ for the NO₂-toluene (34 ppm)-O₂-N₂ (1 atm.) system. Partial pressure of O₂ are ○ 160, △ 418 and □ 760 Torr.

表1 NO₂-トルエン (34ppm) - O₂ - N₂系 (全圧 760 Torr) 光酸化反応における各生成物の相対収量 (クレゾール+ニトロクレゾール=1.0)

Table 1. Relative Product Yield (Cresols + Nitrocresols = 1.0) in the Photooxidation of the NO₂-Toluene-O₂/N₂ System (Total Pressure = 760 Torr)

Initial NO ₂ (ppm)	NO ₂ eq (ppm)	O ₂ (Torr)	Benzaldehyde	Cresols	Benzyl Nitrate	<i>m</i> -Nitrotoluene	Nitrocresols
174	92	160	0.26	0.23	0.052	0.021	0.77
145	64	160	0.21	0.45	0.040	0.015	0.55
38	13	160	0.21	0.89	0.033	0.062	0.11
20	7	160	0.18	0.91	0.023	0.060	0.09
11	5	160	0.20	0.89	0.021	0.071	0.11
24	6	47	0.15	0.93	0.016	0.030	0.07
30	12	418	0.21	0.84	0.018	0.043	0.16
30	23	760	0.24	0.68	0.017	0.045	0.32

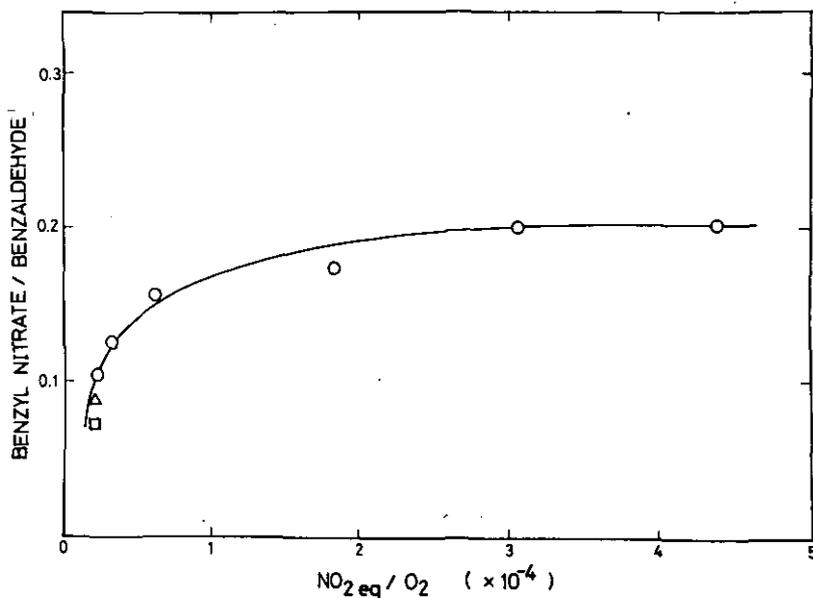


図7 硝酸ベンジル対ベンズアルデヒド生成比のNO₂対O₂濃度比に対する変化。
トルエン, 34ppm; O₂分圧 160 (○), 418 (△), 760 Torr (□); 全圧
(O₂/N₂), 760 Torr

Fig. 7 The formation ratio of benzyl nitrate to benzaldehyde vs. the ratio of equilibrium concentration of NO₂ to O₂ for the NO₂-toluene (34 ppm)-O₂-N₂ system. Partial pressure of O₂ are ○ 160, △ 418 and □ 760 Torr.

上の反応における長寿命ビラジカルの存在は Mani と Sauer¹⁶⁾ の実験からも示唆されている。o-クレゾールは上の O(³P) とトルエンの反応の他に, OHラジカルとトルエンの反応によっても生成することが分かっている¹⁰⁾が, 本研究の反応系におけるOHの寄与については後に議論を行う。

ニトロクレゾールとクレゾールの比は NO₂ の濃度と共に直線的に増加するが, ベンズアルデヒドに対するクレゾールとニトロクレゾールの和の比は NO₂ 濃度によらず一定であった (図6 参照)。この結果はニトロクレゾールは, クレゾールを生成する前駆体に対する NO₂ の競争反応で生成することを示唆している。このことからニトロクレゾールの生成機構としては次の反応を提案する。

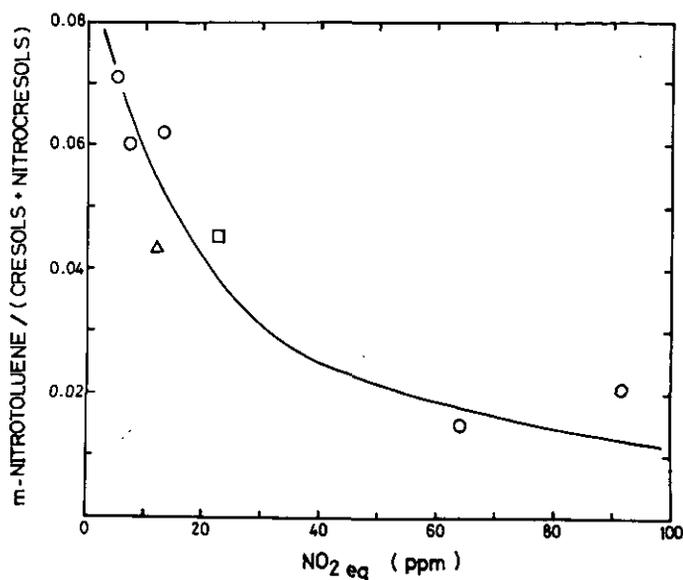
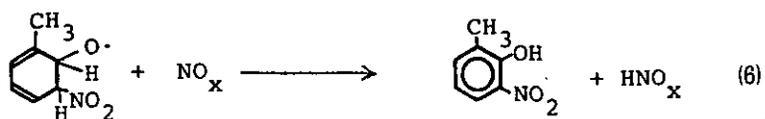
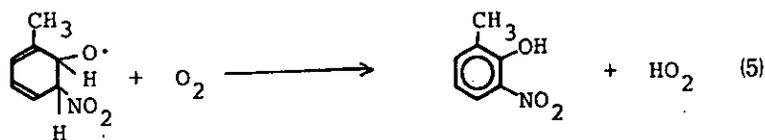
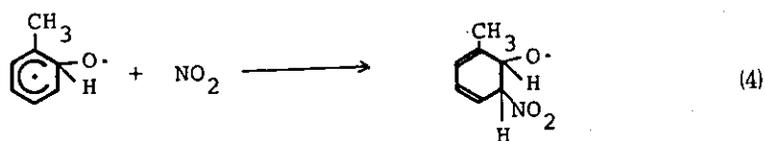


図8 クレゾールとニトロクレゾールの和に対する、*m*-ニトロトルエンの生成比の NO₂ 濃度依存性。トルエン、34ppm；O₂分圧 160 (○)，418 (△)，760 Torr (□)；全圧 (O₂/N₂)，760 Torr

Fig. 8 The formation ratio of *m*-nitrotoluene to the sum of cresols and nitrocresols vs. equilibrium concentration of NO₂ for the NO₂-toluene (34 ppm) O₂/N₂ system. Partial pressure of O₂ are ○ 160, △ 418 and □ 760 Torr.



ここで NO_x は NO または NO₂ を表す。O₂ が存在しない場合にニトロクレゾールの生成が抑制

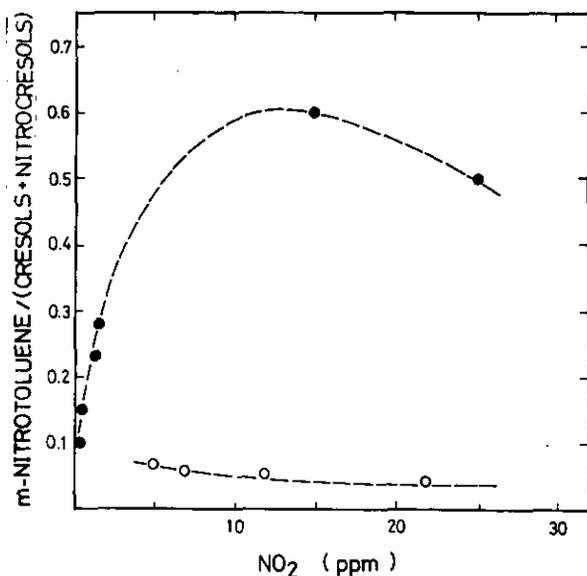
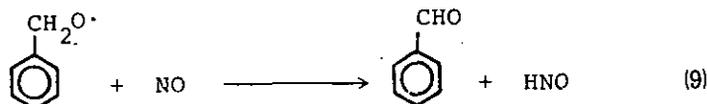
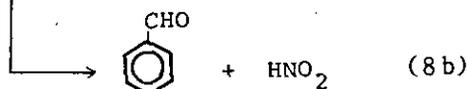
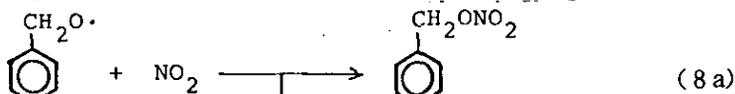
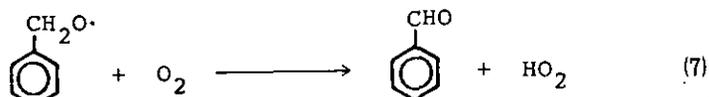


図9 クレゾールとニトロクレゾールの和に対する、*m*-ニトロトルエン生成比のNO₂初期濃度依存性。●, HNO₂(12ppm)-NO₂-トルエン(34ppm)-空気(1気圧)系; ○, NO₂-トルエン(34ppm)-空気(1気圧)系

Fig. 9 The formation ratio of *m*-nitrotoluene to the sum of cresols and nitrocresols vs. initial concentration of NO₂ for the HNO₂-NO₂-toluene (34 ppm)-air (1 atm.) system (●) and the NO₂-toluene (34 ppm)-air (1 atm.) system (○).

されるという実験事実は、この場合 O₂ による反応(5)が起こらなくなるためであるとして説明できる。また反応機構として反応(2)-(6)を考えた場合、反応(4)において NO₂ がビラジカルに付加するとき、酸素原子が付加した炭素原子の隣の炭素原子に選択的に付加するものとすれば、ニトロクレゾール中の異性体としては6-ニトロ-*o*-クレゾールが主生成物となるはずであるが、これは実験結果とよく一致している。

ベンズアルデヒドと硝酸ベンジルの生成機構 ベンズアルデヒドおよび硝酸ベンジルは O₂ の存在する場合にのみ生成する。これら生成物の存在は、その前駆中間体としてベンジルオキシラジカルが存在することを強く示唆しており、次の反応機構が考えられる。



この機構によればベンズアルデヒド (B.A.) と硝酸ベンジル (B.N.) の生成比は

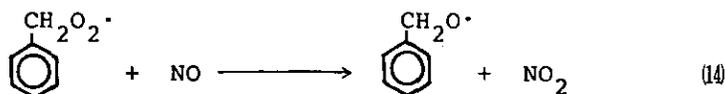
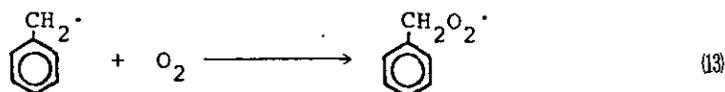
$$\frac{[\text{B.A.}]}{[\text{B.N.}]} = \frac{k_7 [\text{O}_2]}{k_{8a} [\text{NO}_2]_{\text{eq}}} + \frac{1}{k_{8a}} \left(k_{8b} + k_9 \frac{[\text{NO}]_{\text{eq}}}{[\text{NO}_2]_{\text{eq}}} \right) \quad (10)$$

で表されるはずである。ここで $[\text{NO}]_{\text{eq}}$, $[\text{NO}_2]_{\text{eq}}$ は光平衡状態における NO, NO_2 の濃度を表す。本研究の実験条件下では、空気 1 気圧の条件において $[\text{NO}]_{\text{eq}}/[\text{NO}_2]_{\text{eq}}$ は、 NO_2 初期濃度によらずほぼ一定 (~ 1.0) であることが分かったので、式 (10) によれば $[\text{B.A.}]/[\text{B.N.}]$ 対 $[\text{O}_2]/[\text{NO}_2]_{\text{eq}}$ のプロットは直線になるはずである。図 7 のデータ (○印) をプロットしたものが図 10 であり、上の直線関係が確かめられた。図 10 の傾きから k_7/k_{8a} の値として 1.4×10^{-4} が得られる。メトキシラジカルに対する同様の反応；



に対する反応速度比の値としては Wiebe ら¹⁷⁾ により $k_{11}/k_{12} = 5.6 \times 10^{-5}$, Glasson¹⁸⁾ により $k_{11}/k_{12a} < 7.4 \pm 0.7 \times 10^{-5}$ が報告されている。本研究で得られたベンジルオキシラジカルに対する値は、メトキシラジカルに対するこれらの値の約 2 倍程度の値となっている。

ベンジルオキシラジカルは



の反応で生成されるものと考えられる。アルキルラジカルに対する同様の反応は Heicklen ら¹⁹⁾ によって提案されている。上の反応機構によればベンズアルデヒドおよび硝酸ベンジルは O_2 が存在しない場合には生成しないはずであり、それらの生成量は全てのベンジルラジカルが O_2 によって捕そくされるまで O_2 濃度と共に増加するはずである。後者の事実は図 4 に示したようにベンズアルデヒドについて確かめられた。また O_2 が存在しない場合ベンズアルデヒド、硝酸ベンジルが生成しないことも本研究において実験的に確かめられた。より高濃度 (NO_2 , トルエン各 1000 ppm) における Ishikawa ら^{7b)} の実験でも、 O_2 が存在しない場合、ベンズアルデヒドはほとんど生成せず、硝酸ベンジルの生成量も O_2 が存在する場合に比べて極めて少ないという結果が報告されている。

最近 Sloane²⁰⁾ は分子ビームの実験条件下で $\text{O}(^3\text{P})$ とトルエンの反応を研究し、

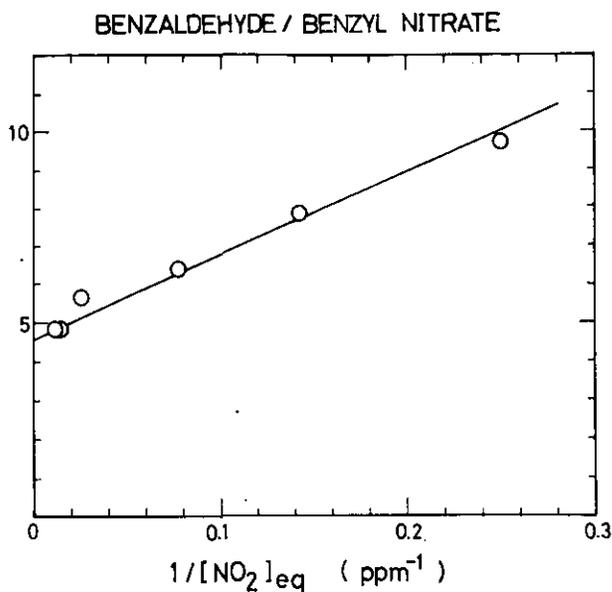
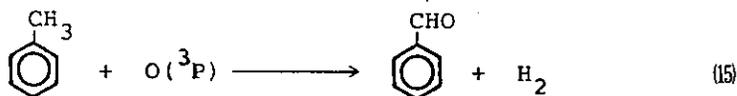


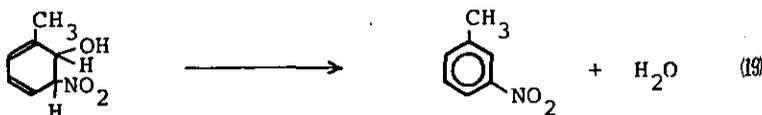
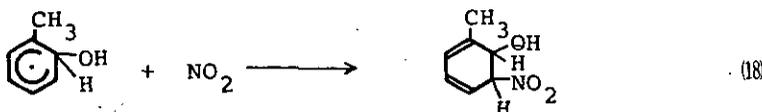
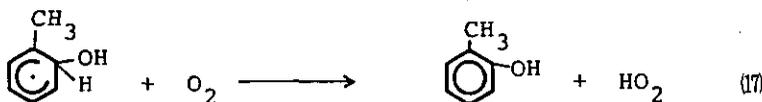
図10 ベンズアルデヒド対硝酸ベンジルの、 NO_2 平衡濃度の逆数に対するプロット。トルエン、34ppm；空気、760 Torr

Fig. 10 The formation ratio of benzaldehyde to benzyl nitrate vs. the reciprocal of the equilibrium concentration of NO_2 for the NO_2 -toluene (34 ppm)-air (1atm.) system.

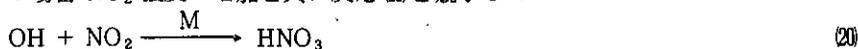


の反応を提案している。もしこの反応が起こるならベンズアルデヒドは O_2 が存在しない系においても生成するはずであるが、これは本研究の実験事実と反するので、本研究の実験条件下では反応(15)は重要でないものと考えられる。

m -ニトロトルエンの生成機構 m -ニトロトルエンの相対生成量は NO_2 の増加と共に減少する (図8 参照)。これは予想に反する事実であるが、 m -ニトロトルエンは $O(^3P)$ とトルエンの反応ではなくて OH ラジカルとトルエンの反応で生成するものと考えたと説明することができる。 OH ラジカルとトルエンの反応が主反応であると思われる HNO_2-NO_x -トルエン-空気系の場合のクレゾールに対する m -ニトロトルエンの相対収量を NO_2 -トルエン-空気系の場合と比較したのが図9である。 m -ニトロトルエンの相対収量は前者の系の方がはるかに大きく、この場合 NO_2 10ppm以下の領域では、相対収量は NO_2 濃度と共に増加する。 HNO_2-NO_x -トルエン-空気系における m -ニトロトルエンとクレゾールの生成機構としては、

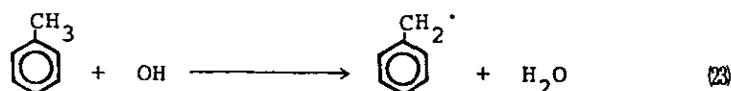
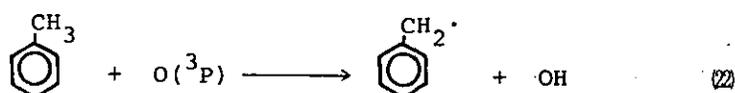


が別報で提案されている¹⁹⁾。この機構によればクレゾールに対する *m*-ニトロトルエンの相対収量が NO_2 濃度と共に増加するのは反応 (17), (18) の競争反応で説明できる。これに対し本研究における NO_2 -トルエン-空気系では、大部分のクレゾールは $\text{O}(^3\text{P})$ とトルエンの反応で生成するのに対し、*m*-ニトロトルエンは OH とトルエンの反応, (16), (18), (19) で生成するのではないかと考えられる。この場合 NO_2 濃度の増加と共に反応 (16) と競争して

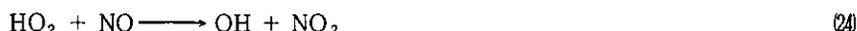


の反応によって OH が消費されるため、 NO_2 濃度の増加と共に *m*-ニトロトルエンのクレゾールに対する相対収量が減少するものと考えられる。空気 1 気圧下での反応 (20), (21) の速度定数^{21,22)} は同程度であるが反応 (21) で生成した HNO_2 は光分解により OH を再生するので、 OH の消費反応としては反応 (20) がより有効に効いているものと思われる。

ベンジルラジカルの生成機構 本研究で提案された反応機構によれば、側鎖酸化化合物のベンズアルデヒド、硝酸ベンジルはベンジルオキシラジカルを中間体として生成しており、一方ベンジルオキシラジカルは反応 (13), (14) によりベンジルラジカルから生成するものと考えられる。 NO_2 -トルエン-空気系におけるベンジルラジカルの生成反応としては



の二つが考えられる。ここで OH ラジカルは主として



の反応で生成するものと考えられるが、OH ラジカルはその他にも反応 (6), (8b), (21) で生成する HNO₂ の光分解、および反応 (22) でも生成するであろう。また上式中の HO₂ ラジカルは反応 (5), (7), (17) で生成するものと考えられる。

OH ラジカルとトルエンとの反応では、側鎖のメチル基からの水素引き抜き反応 (反応 (23)) とベンゼン環への付加反応 (反応 (16)) の両方が起こることが知られている^{10,23,24)}。Davis²³⁾ は OH とトルエンの反応の反応速度定数の圧力依存性から反応の50%以上は付加反応であると結論している。また Perry²⁴⁾ は 380 K 以上の温度では反応は全て水素引き抜き反応であるという仮定に基づいて、室温では $0.16 \begin{smallmatrix} +0.07 \\ -0.05 \end{smallmatrix}$ が引き抜き反応であると見積もっている。また我々の OH ラジカルとトルエンの反応生成物の分析からは $30 \pm 5\%$ が水素引き抜き反応である¹⁰⁾。

これに対しトルエンと O(³P) の反応は従来ベンゼン環への付加反応だけで、側鎖メチル基からの水素引き抜きはないと考えられていた。これは N₂O-トルエン系の水銀光増感反応においてジベンジルが見出されないためである。しかしながら本研究における *m*-ニトロトルエンの NO₂ 濃度依存性 (図 9) は NO₂-トルエン-空気系では OH ラジカルの寄与は余り大きくないことを示している。従ってこの系ではベンジルラジカルの生成は O(³P) によるトルエンの側鎖メチル基からの水素引き抜き反応によるものと考えられる。生成したベンジルラジカルが全てベンズアルデヒドと硝酸ベンジルになるものと仮定すると O(³P) とトルエンの反応における水素引き抜きの割合は約 20% である。

O(³P) とトルエンとの反応で水素引き抜きがないとする従来の研究の結論と、20% の水素引き抜きがあるとする本研究の結論の差異は次のいずれかの理由によるものと思われる：(1) 本研究における NO₂-トルエン-空気系での OH ラジカルの寄与が無視できず、*m*-ニトロトルエン相対収量の NO₂ 濃度依存性は何か別の原因によるものである；(2) N₂O-トルエン系の水銀光増感反応でもベンジルラジカルは生成しているが、それらは過剰の酸素原子等と反応してポリマーを生成しジベンジルを生成していない。O(³P) とトルエンの反応の初期過程を明らかにするためには更に研究が必要である。

引 用 文 献

- 1) 中央公害対策審議会大気部会, 炭化水素に係る環境基準専門委員会: 「光化学オキシダント生成防止のための大気中炭化水素濃度の指針に関する報告」資料6, 「炭化水素類の排出実態について」, 大気汚染研究, **12**, 287 (1977).
- 2) 近本武次・迫田吉之助, 大気汚染研究, **12**, 389 (1977).
- 3) Altshuller, A.P., *Int. J. Air.Wat. poll.*, **10**, 713 (1966).
- 4) (a) Haagen-Smit, A.J., Fox, M.M., *Ind. Eng. Chem.*, **48**, 1484 (1956);
 (b) Altshuller, A.P., Cohen, I.R., Slava, S.F., Kopczynski, S.L., *Science*, **138**, 442 (1962);
 (c) Heuss, J.M., Glasson, W.A., *Environ. Sci. Technol.*, **2**, 1109 (1968);
 (d) Glasson, W.A., Tuesday, C.S., *Environ. Sci. Technol.*, **4**, 919 (1970);
 (e) Doyle, G.J., Lloyd, A.C., Darnall, K.R., Winer, A.M., Pitts, Jr., J.N., *Environ. Sci. Technol.*, **9**, 237 (1975);
 (f) Lloyd, A.C., Darnall, K.R., Winer, A.M., and Pitts, Jr., J.N., *J. Phys. Chem.*, **80**, 789 (1976).
- 5) Kopeczynski, S.L., *Int. J. Air. Wat. Poll.*, **8**, 107 (1964).
- 6) (a) Nojima, K., Fukaya, K., Fukui, S., Kanno, S., *Chemosphere*, **6**, 77 (1975);
 (b) Nojima, K., Fukaya, K., Fukui, S., Kanno, S., *Chemosphere*, **5**, 247 (1974).
- 7) (a) Watanabe, K., Ishikawa, H., Ando, W., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 1253 (1978);
 (b) Ishikawa, H., Watanabe, K., Ando, W., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 2173 (1978);
- 8) (a) 加藤竜夫・花井義道, 「芳香族光反応系生成物質のGC-MSによる同定」第16回大気汚染研究全国協議会大会, 要旨集 p. 480, 1975;
 (b) 加藤竜夫・花井義道・堀本能之・加藤浩成, 横浜国立大学環境科学研究センター紀要, **1**, 37 (1974);
 (c) 加藤竜夫・花井義道, 横浜国立大学環境科学研究センター紀要, **2**, 1 (1976).
- 9) 本研究の内容の一部は下記学会で口頭発表された。
 (a) 秋元 肇・井上 元・奥田典夫・星野幹雄・鷺田伸明: 光化学討論会, 東京 (50.11)
 (b) Akimoto, H., Hoshino, M., Inoue, G., Okuda, M., Washida, N., 12th International Conference on Photochemistry, Gaithersburg, Maryland, June, 1976;
 (c) 星野幹雄・鷺田伸明・秋元 肇・井上 元・奥田典夫: 光化学討論会, 福岡 (51.10)
 (d) Akimoto, H., Hoshino, M., Inoue, G., Okuda, M., Washida, N., Proceedings of International Conference on Photochemical Oxidant Pollution and Its Control, EPA-600/3-77-001a (1977).
- 10) Hoshino, M., Akimoto, H., Okuda, M., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 718 (1978)
 (本報告書, 報文2参照)
- 11) Cox, R.A., *J. Photochem.*, **3**, 175 (1974).
- 12) Stenhagen, E., Abrahamson, S., McLafferty, F.W., *Registry of Mass Spectral Data*, Vol. 1, John Wiley & Sons, New York, N.Y., (1974).
- 13) Jones, G.R.H., Cvetanović, R.J., *Can. J. Chem.*, **39**, 2444 (1961).
- 14) Grovenstein, Jr., E., Mosher, A.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 3810 (1970).
- 15) Gaffney, J.S., Atkinson, R., Pitts, Jr., J.N., *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 1828 (1976).
- 16) Mani, I., Sauer, Jr., M.C., *Adv. Chem. Ser.*, **82**, 142 (1968).
- 17) Wiebe, H.A., Villa, A., Hellman, T.M., Hecklen, J., *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 7 (1973).
- 18) Glasson, W.A., *Environ. Sci. Technol.*, **9**, 1049 (1975).
- 19) Hecklen, J., Westberg, K., Cohen, N., in "Chemical Reactions in Urban Atmosphere," ed by C. Tuesday, Elsevier, New York (1976), p. 55.

- 20) Sloane, T.M., *J. Chem. Phys.*, **67**, 2267 (1977).
- 21) Atkinson, R., Perry, R.A., Pitts, Jr., J.N., *J. Phys. Chem.*, **65**, 306 (1976).
- 22) Atkinson, R., Hansen, D.A., Pitts, Jr., J.N., *J. Phys. Chem.*, **62**, 3284 (1975).
- 23) Davis, D.D., Bollinger, W., Fischer, S., *J. Phys. Chem.*, **79**, 293 (1975).
- 24) Perry, R.A., Atkinson, R., Pitts, Jr., J.N., *J. Phys. Chem.*, **81**, 296 (1977).

IV-2

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光酸化反応*

Photochemical Oxidation of Benzene, Toluene and Ethylbenzene
Initiated by OH Radicals in the Gas Phase*

星野幹雄^{1,2}・秋元 肇¹・奥田典夫¹

Mikio HOSHINO^{1,2}, Hajime AKIMOTO¹ and Michio OKUDA¹

要 旨

内容積67dm³のバイレックス製反応容器を用い、NO、NO₂、空気存在下でOHラジカルによって開始される、トルエン、ベンゼン、エチルベンゼンの光酸化反応を研究した。用いられた反応系はHNO₂-NO-NO₂-空気系で、OHラジカルはHNO₂の光分解および後続反応で供給される。主生成物はベンゼンの場合フェノールとニトロベンゼン；トルエンの場合クレゾール、ベンズアルデヒド、*m*-、*p*-ニトロトルエン、および硝酸ベンジル；エチルベンゼンの場合エチルフェノール、ベンズアルデヒド、アセトフェノン、および*m*-、*p*-ニトロエチルベンゼンであった。これらの実験結果から、OHラジカルのベンゼン環への付加反応と側鎖アルキル基からの水素引き抜き反応に基づいた光酸化反応機構の提案を行った。

Abstract

Photochemical oxidation of benzene, toluene, and ethylbenzene initiated by OH radicals in the presence of NO and NO₂ was studied in the air by using a 67 dm³ reaction chamber made of Pyrex glass. OH radicals were produced by photochemical decomposition of nitrous acid, the products being phenol and nitrobenzene for benzene; cresols, benzaldehyde, *m*- and *p*-nitrotoluenes, and benzyl nitrate for toluene; ethylphenols, benzaldehyde, acetophenone, and *m*- and *p*-nitroethylbenzene for ethylbenzene. The reaction mechanisms are proposed based on the addition of OH radicals to aromatic rings and the hydrogen abstraction of OH radicals from alkyl groups.

* 本論文の要旨は英文にて下記雑誌に発表。

Essence of this paper has been published in English in; Bull. Chem. Soc. Jpn., 51, 718 (1978).

1. 国立公害研究所 大気環境部 〒300-21 茨城県筑波郡谷田部町

Division of Atmospheric Environment, The National Institute for Environmental Studies,
P.O. Yatabe, Ibaraki, 300-21.

2. 現住所：理化学研究所、〒351 埼玉県和光市広沢2-1

Present address: The Institute of Physical and Chemical Research, Wako-shi, Saitama, 351.

緒言

本報告書の前報¹⁾において我々は NO_2 - トルエン - 空気系光酸化反応の反応生成物および反応機構について議論を行った。我々の実験条件下では、この反応系は NO_2 光分解で生成する $\text{O}(^3\text{P})$ 原子によって反応が開始され、酸化生成物はトルエンと $\text{O}(^3\text{P})$ およびトルエンと OH ラジカルの両者の反応によってもたらされるものと考えられる。

しかし最近の研究²⁻⁵⁾によれば、実際の光化学大気汚染の条件下では $\text{O}(^3\text{P})$ よりも OH ラジカルの方が重要な役割を果たしており、炭化水素の酸化反応生成物はほとんど全て OH ラジカルとの反応でもたらされていることがわかってきた。そこで本研究においては、前報で報告した研究よりも更に大気条件に近い反応条件下でのアルキルベンゼン類の光酸化反応生成物を調べる目的で、 HNO_2 - NO - NO_2 - 空気系でのベンゼン、トルエン、エチルベンゼンの光酸化反応を行った。これらの反応系では光酸化反応は HNO_2 の光分解で生成する OH ラジカルによって開始され、酸化生成物の大部分は、アルキルベンゼン類と OH ラジカルとの反応によってもたらされているものと考えられる。また本研究の実験では共存する NO 、および NO_2 濃度も数 ppm 以下と、前報¹⁾における実験に比べてはるかに低いので、反応生成物、およびそれらの生成比は実際の大気条件下のものに、より近いものと考えられる。

アルキルベンゼン類と OH ラジカルの気相反応については、それらの素反応速度定数は閃光光分解-共鳴ケイ光法^{6,7)}、およびスモッグチャンバー実験法^{8,9)}によってくわしく研究されている。しかし最終生成物に関する研究は従来ほとんど報告されていない。光化学汚染大気中において、アルキルベンゼン類は飽和炭化水素類、オレフィン系炭化水素類とは全く異なった型の酸化生成物を与えるものと思われるので、それらの同定は大気化学の面から非常に重要であると考えられる。

実験

実験に用いられたパイレックス製反応容器(内容積67dm³)および光源(高圧キセノンランプ、500W)については前報¹⁾にくわしく述べられている。 HNO_2 は亜硝酸ナトリウムと硫酸との反応で、 $\text{Cox}^{10)}$ の方法により生成させた。 HNO_2 発生装置は500cm³の丸底フラスコで、空気の流入、流出口および亜硝酸ナトリウム水溶液を滴下させる小型ビュレットが取り付けられている。まずフラスコ内に5%硫酸20cm³を入れ、一旦脱気した後“純空気”を流通させながら亜硝酸ナトリウム水溶液($5 \times 10^{-2} \sim 5 \times 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)10cm³をビュレットから一滴ずつ滴下させた。発生した HNO_2 は空気流によって運ばれ、反応容器内に導入された。この方法では HNO_2 と共に NO 、 NO_2 が同時に発生するので、反応容器内の HNO_2 、 NO 、 NO_2 の濃度を $\text{Cox}^{10)}$ の方法により次のようにして測定した。測定には市販の化学発光法による窒素酸化物測定器(モニターラボ社、モデル8440)を用いた。この測定器は NO および NO_x の濃度を同時に測定できるが、ここで NO_x としては HNO_2 、 NO 、および NO_2 の和が測定される。すなわち

$$[\text{NO}_x] = [\text{HNO}_2] + [\text{NO}] + [\text{NO}_2] \quad (\text{i})$$

次で HNO_2 , NO , NO_2 の混合物を、アルカリ水溶液 (0.1 N - NaOH) を満たした小型トラップ内を通過させると、 HNO_2 は完全に除去され、 NO および NO_2 の一部が吸収される。すなわち

$$[\text{NO}_x]_{\text{残り}} = (1 - a)[\text{NO}] + (1 - b)[\text{NO}_2] \quad (\text{ii})$$

ここで $[\text{NO}_x]_{\text{残り}}$ は上記アルカリ水溶液を通過させたときの測定器の NO_x の指示値であり、 a , b は NO および NO_2 を別個にアルカリ液を通過させたときの減少率から、それぞれ 0.1, 0.2 と求められた。アルカリ液を通過させたときと、させないときの NO_x および NO の指示値より、式 (i)(ii) を用いて HNO_2 , NO および NO_2 の濃度を算出した。

光照射実験中の生成物の分析法は前報¹⁾ の場合と同様である。また分析用ガスクロマトグラフのカラムとしては前報¹⁾ と同様 5% SE-30 (担体シマライト W), 3 m, を用い、80°C ~ 200°C まで 4°C/min での昇温を行った。試料のベンゼン、トルエン、およびエチルベンゼンは和光純薬工業製のもの、また“純空気”および窒素 (“純ガス B”) は高千穂化学工業製のものそれぞれ特に精製せずに使用した。

結果

ベンゼン - HNO_2 - 空気系の光照射実験で得られた主生成物はフェノールとニトロベンゼンであった。図 1 はベンゼン初期濃度 31 ppm, HNO_2 初期濃度 3.2 ppm の時の、これら生成物の照射時間に対する生成曲線を示した。図 1 にみるように、フェノール、ニトロベンゼンは最初時間と共にほぼ直線的に増加するが、次第に生成速度は減少して上に凸の曲線を示す。これは HNO_2 濃度が光分解により徐々に減少するためであると思われる。ニトロベンゼンとフェノールの生成比は照射時間と共に増加する。これは反応の進行と共に系内の NO_2 濃度が増加するためであろう。反応初期の生成曲線の傾きの比から得られるニトロベンゼンとフェノールの生成比を表 1 に示した。表 1 にみる

表 1 ベンゼン - HNO_2 - NO_x - 空気系光酸化反応における生成物の初期相対生成速度, ベンゼン, 31 ppm

Table 1. Relative Product Yields in the Photo-oxidation of the Benzene- HNO_2 - NO_x -Air System, Benzene, 31 ppm.

Initial Concentration			Relative Product Yield	
HNO_2 ppm	NO_2 ppm	NO ppm	Phenol	Nitro- benzene
0.52	0.02	0.06	1.0	0.08
3.2	1.4	1.2	1.0	0.50

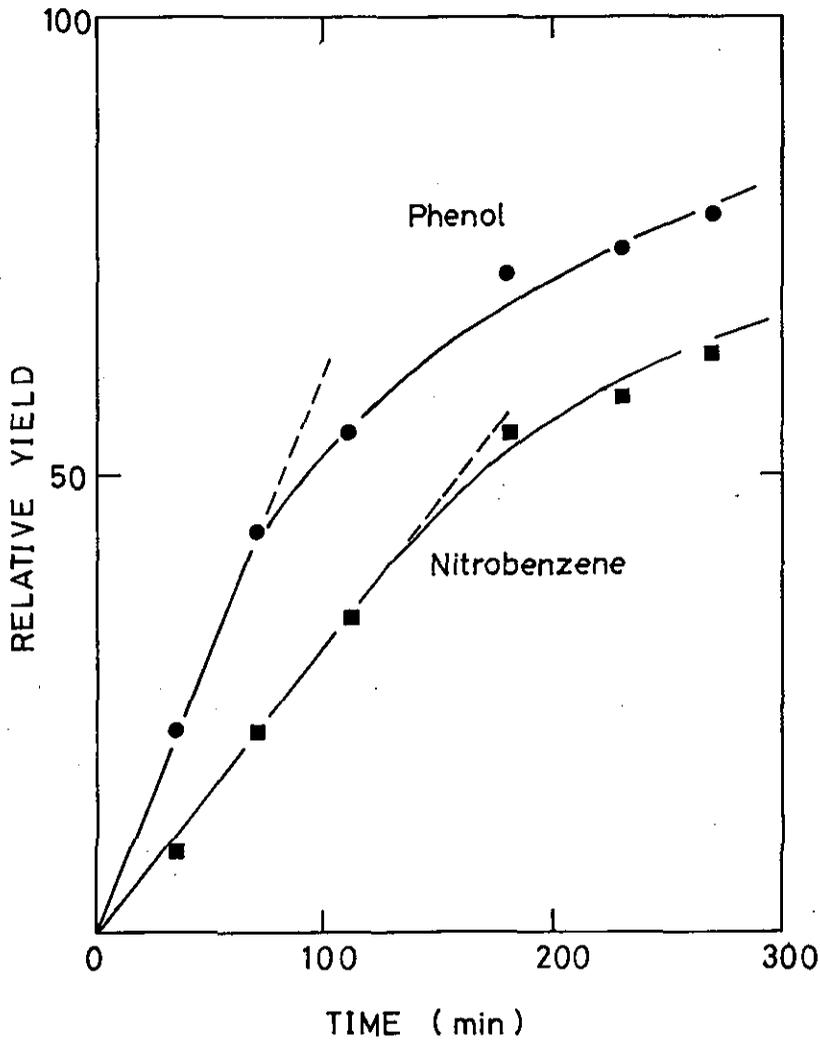


図1 ベンゼン-HNO₂-空気系光酸化反応におけるフェノール、およびニトロベンゼン生成量の時間変化。ベンゼン, 31; HNO₂, 3.2; NO₂, 1.4; NO, 1.2 ppm

Fig. 1 Relative yields of phenol and nitrobenzene vs. irradiation time in the photooxidation of benzene-HNO₂-air system. Benzene, 31; HNO₂, 3.2; NO₂, 1.4; NO, 1.2 ppm.

ように、この比は NO_x (HNO₂, NO, NO₂) の初期濃度に依存し、NO_x初期濃度が高い程、ニトロベンゼンの生成比は大きい。微量生成物としてニトロフェノールも検出されたが、その生成量はフェノールの1%以下であり、試料濃縮管の温度によって変化した。ニトロフェノールは主として

濃縮管内におけるフェノールと NO_2 の反応で生成しているものと思われる。

トルエン - HNO_2 - 空気系における主生成物はクレゾール、ベンズアルデヒド、および *m*-ニトロトルエンであった。これらより生成量は少ないが *p*-ニトロトルエン、硝酸ベンジル、およびニトロクレゾールの生成がみられた。また微量生成物として質量ピーク $m/e = 124$ (39), 123 (18), 122 (100), 94 (93), 82 (54), 66 (48), 54 (69) (カッコ内は相対強度比) をもつ物質が GC-MS によって検出されたが、同定は行われなかった (「考察」参照)。この物質の質量パターンを図 2 に示した。クレゾール中の異性体としては *o*-クレゾールが約 80%, *m*-, *p*-クレゾールは約 20% であった。本研究で用いた GC カラムでは *m*-, *p*-クレゾールは分離できなかった。ニトロクレゾールの収量はクレゾールの 5% 以下であった。ニトロクレゾールはベンゼンの場合のニトロフェノールと同様、濃縮管内のクレゾールと NO_2 の熱反応で生成していると思われるので、以下の表 2, および図 3, 4 ではニトロクレゾールの収量はクレゾールの収量に加えてデータ解析を行った。

HNO_2 (6 μM) - NO (2.1 μM) - NO_2 (1.3 μM) - トルエン (31 μM) - 空気系に光照射したときのクレゾール、ベンズアルデヒド、硝酸ベンジル、*m*-, *p*-ニトロトルエンの生成量の時間変化を図 3 に示した。光照射 4 時間後の HNO_2 濃度は 6 μM から 2.3 μM に減少し、一方 NO_2 濃度は 1.3 μM から 2.1 μM に増加していた。このことから図 3 における [クレゾール + ニトロクレゾール],

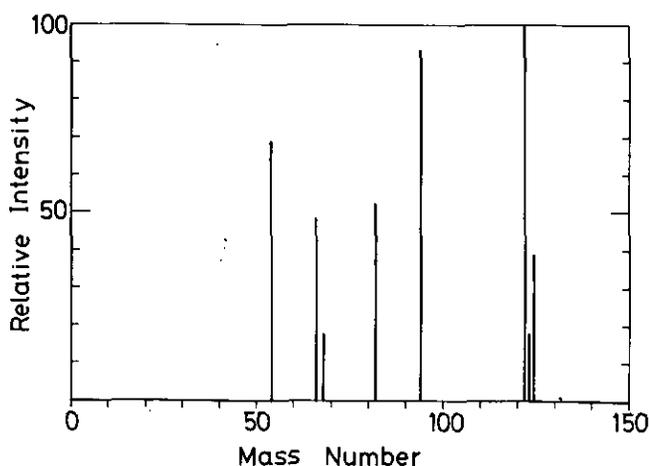


図 2 トルエン - HNO_2 - 空気系の光酸化反応で生成する未同定物質のマスパターン

Fig. 2 Mass spectrum of an unidentified product in the photooxidation of toluene- HNO_2 -air system.

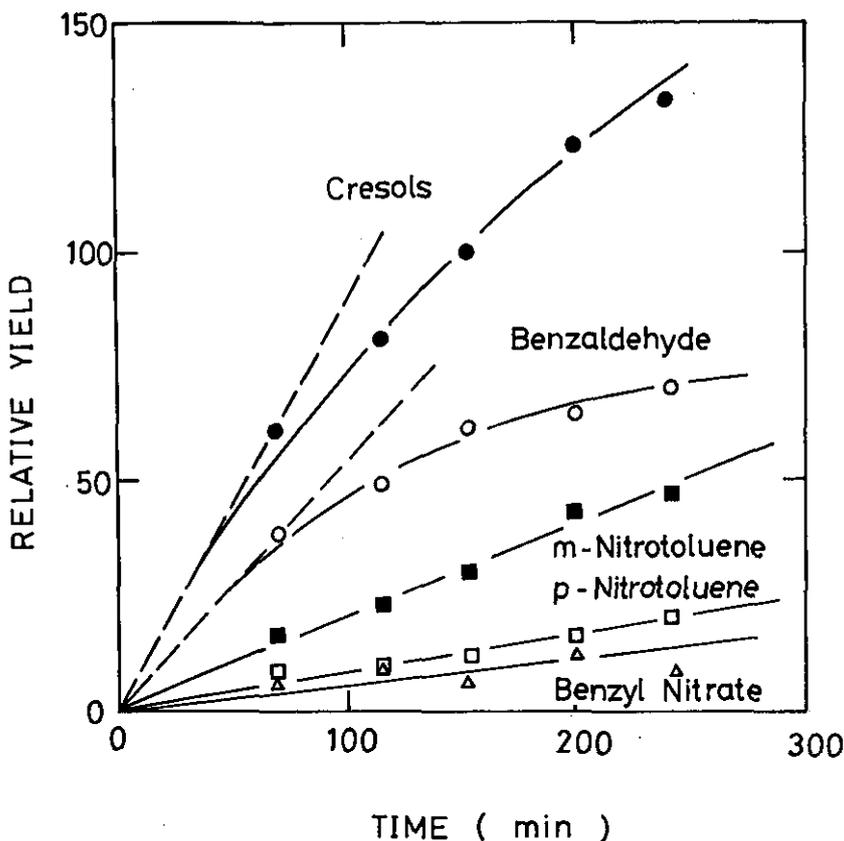


図3 トルエン-HNO₂-空気系の光酸化反応におけるクレゾール、ベンズアルデヒド、*m*-ニトロトルエン、*p*-ニトロトルエンおよび硝酸ベンジル生成量の時間変化。トルエン、31；HNO₂、6；NO₂、1.3；NO、2.1 ppm

Fig. 3 Relative yields of cresols, benzaldehyde, *m*-nitrotoluene, *p*-nitrotoluene, and benzyl nitrate vs. irradiation time in the photooxidation of toluene-HNO₂-air system. Toluene, 31; HNO₂, 6; NO₂, 1.3; NO, 2.1 ppm.

およびベンズアルデヒドの生成速度が時間と共に減少するのは、HNO₂濃度が時間と共に減少するためであろうと思われる。これに対し、*m*-ニトロトルエンが時間と共にほぼ直線的に増加しているのは、*m*-ニトロトルエンの生成にはHNO₂とNO₂が共に関与しているためHNO₂の減少をNO₂の増加が補って、見かけ上生成速度がほぼ一定に保たれているものと思われる。

初期生成速度の比から求めた各生成物の相対生成比を表2に示した。表2にみるようにベンズアルデヒドのクレゾールに対する生成比はNO₂濃度によらずほぼ一定であるが、*m*-ニトロトルエンのクレゾールに対する生成比はNO₂の初期濃度と共に増加する。表2のデータをもとに、その様

表2 トルエン-HNO₂-NO_x-O₂/N₂系光酸化反応における各生成物の初期
 相対生成速度(クレゾール=1.0), トルエン, 31ppm

Table 2. Relative Product Yields (Cresol = 1.0) in the Photo-oxidation of the
 Toluene-HNO₂-NO_x-O₂/N₂ System, Toluene, 31 ppm.

Initial Concentration				Relative Product Yield			
HNO ₂ ppm	NO ₂ ppm	NO ppm	Atmos- phere	Benz- aldehyde	Benzyl Nitrate	<i>m</i> -Nitro- toluene	<i>p</i> -Nitro- toluene
4	0.2	0.4	air	0.45	0.06	0.10	0.10
7	0.5	1.0	air	0.42	0.06	0.15	0.10
6	1.3	2.1	air	0.61	0.06	0.23	0.09
12	1.5	1.5	air	0.48	0.05	0.28	0.11
3	0.3	0.4	N ₂	—	—	0.43	0.17
12	2.0	3.6	N ₂	—	—	0.97	0.14

子をプロットしたものが図4である。これに対しNO₂初期濃度を増加させた時の*p*-ニトロトルエンの生成量の増加は*m*-ニトロトルエンの場合程顕著ではない。

反応を空気かわりに、窒素1気圧中で行った時の生成物は、クレゾールおよび*m*-、*p*-ニトロトルエンで、ベンズアルデヒドおよび硝酸ベンジルの生成はみられなかった(表2参照)。また、ほぼ等しいNO₂初期濃度に対して、*m*-ニトロトルエンのクレゾールに対する生成比は窒素中の方が空気中よりも約4倍大きかった。クレゾール中の*o*-クレゾールの割合は窒素中でも空気中の場合とほとんど等しかった。

HNO₂-エチルベンゼン系の光酸化反応生成物はエチルフェノール、アセトフェノン、ベンズアルデヒド、*m*-ニトロエチルベンゼン、および*p*-ニトロエチルベンゼンであった。微量生成物としてニトロエチルフェノールも検出された。フェニルアセトアルデヒドの生成はみられなかった。これら生成物の照射時間に対する生成曲線にはベンゼンおよびトルエンの場合と同様の傾向がみられた。すなわちエチルフェノール、アセトフェノン、およびベンズアルデヒドの生成速度は照射時間と共に減少するが、*m*-、*p*-ニトロエチルベンゼンの生成速度は照射時間によらずほぼ一定であった。

初期生成比から求めた、エチルフェノールに対する各生成物の相対比を表3に示した。NO₂初期

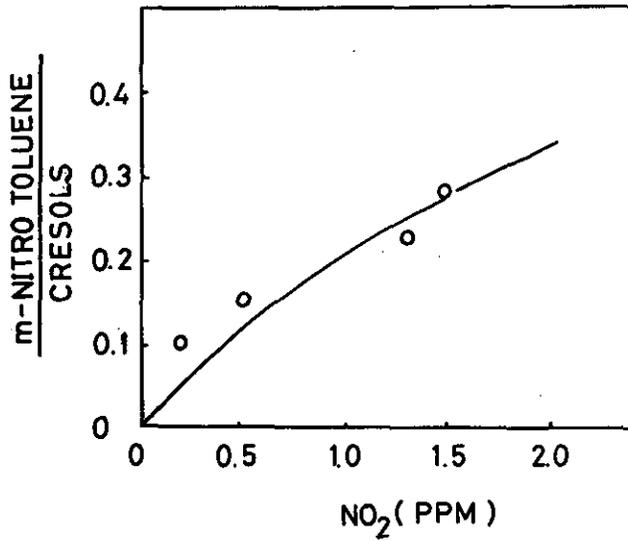


図4 トルエン-HNO₂-空気系での、クレゾールに対する、*m*-ニトロトルエン生成量のNO₂初期濃度依存性。トルエン、31ppm

Fig. 4 Yields of *m*-nitrotoluene relative to cresols as a function of initial concentration of NO₂ in the photooxidation of toluene-HNO₂-air system. Toluene, 31 ppm.

表3 エチルベンゼン-HNO₂-NO_x-空気系光酸化反応における各生成物の初期相対生成速度 (エチルフェノール=1.0)。エチルベンゼン、31ppm

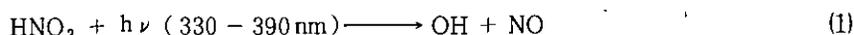
Table 3. Relative Product Yields (Ethylphenol = 1.0) in the Photo-oxidation of the Ethylbenzene-HNO₂-NO_x-Air System. Ethylbenzene, 31 ppm.

Initial Concentration			Relative Product Yield			
HNO ₂ ppm	NO ₂ ppm	NO ppm	Benz-aldehyde	Aceto-phenone	<i>m</i> -Nitro-ethylbenzene	<i>p</i> -Nitro-ethylbenzene
1.7	0.5	0.2	0.60	1.73	0.11	0.08
7.9	1.2	3.0	0.65	2.02	0.37	0.16

濃度と共に *m*-ニトロエチルベンゼン生成量の増加が顕著であることがわかる。これに対し *p*-ニトロエチルベンゼンの生成量も NO₂ 初期濃度の増加と共に増加するが、*m*-ニトロエチルベンゼンの場合程著しくなく、また、アセトフェノンおよびベンズアルデヒドのエチルフェノールに対する相対生成量は NO₂ 初期濃度にほとんど依らないことがわかる。エチルベンゼンの場合、トルエンの場合と異なり、側鎖酸化生成物であるアセトフェノンが、ベンゼン環付加生成物のエチルフェノールの約2倍生成しているのが大きな特徴である。

考 察

本研究で実験の行われたアルキルベンゼン-HNO₂-空気系では、光酸化反応は HNO₂ の光分解反応^{10,11)}



で生成する OH ラジカルによって開始される。反応(1)で生成した OH ラジカルは

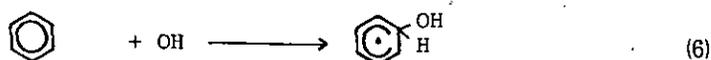


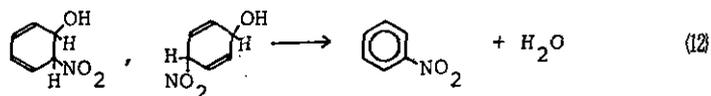
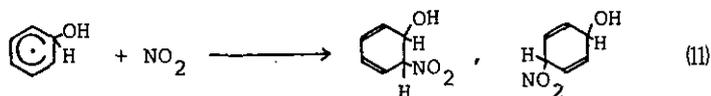
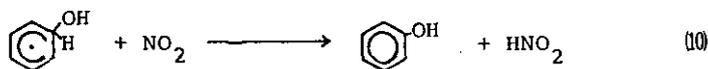
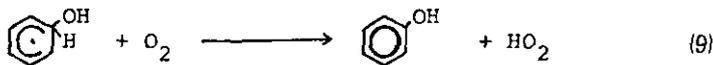
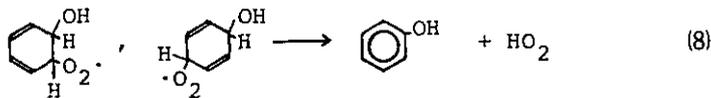
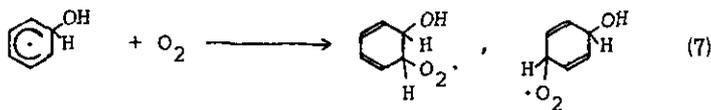
の反応と競争して、アルキルベンゼンと反応するものと思われる。反応(2)(3)の NO, NO₂ は亜硝酸ナトリウムと硫酸とから HNO₂ を発生させるとき、一部副生成物として常に反応系に混入し、また HNO₂ の光分解によっても生成する。空気1気圧の下での OH ラジカルとアルキルベンゼンとの反応では、後に議論されるように HO₂ ラジカルが反応中間体として生成され、HO₂ ラジカルはまた、



の反応で OH ラジカルを再生するので、本研究の光酸化反応は OH ラジカルを連鎖キャリアとする連鎖反応によって進行しているものと考えられる。

ベンゼン-HNO₂系 ベンゼン-HNO₂-空気系光化学反応はベンゼン環への OH ラジカルの付加反応によって開始され、生成した中間体ラジカルの O₂, NO₂ と反応で最終生成物、フェノールおよびニトロベンゼンを与えるものと思われる。その反応機構としては以下のような反応スキームを提案する。





OH ラジカルのベンゼン環への付加反応はベンゼン水溶液の放射線分解^{12,13)}および光分解¹⁴⁾において起こることが知られている。ベンゼン水溶液のパルス放射線分解¹²⁾ではOH ラジカルがベンゼンに付加した形のヒドロキシヘキサジエンラジカルの吸収スペクトルが観測されている。空気飽和水溶液系での最終生成物としてはフェノール、ペルオキシド、ヒドロペルオキシドであるが、これらの生成比はパルス放射線の強度に依存する。強度の弱い場合にはラジカル-ラジカル反応で生成すると考えられるペルオキシド、ヒドロペルオキシドの生成は抑制され、フェノールが主生成物となることが報告されている。他方水溶液中のベンゼン-H₂O₂系の光分解¹⁴⁾、およびベンゼンのγ-放射線分解¹³⁾では、酸素の存在する場合、共に最終生成物としてフェノール、およびヒドロキシ-2,4-ヘキサジエンジアル (CHO-C(OH)=CH-CH=CH-CHO, および CHO-CH=C(OH)-CH=CH-CHO) を生成することが知られている。

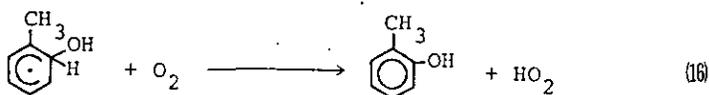
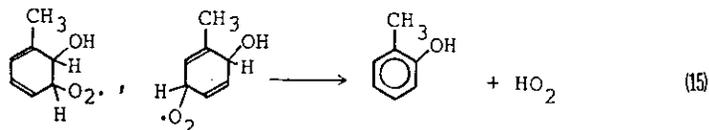
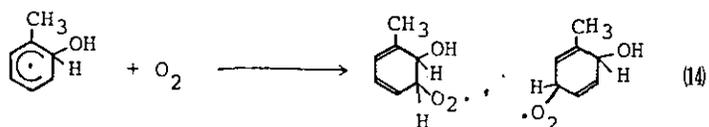
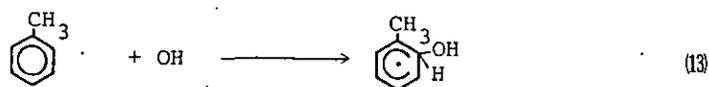
本研究の反応系では最終生成物はフェノールとニトロベンゼンであり、それらの生成機構としては上の反応(6)~(12)が考えられる。その中で反応(7), (8)は水溶液中のフェノールの生成反応として示唆されている¹²⁻¹⁴⁾ものであるが、気相ではO₂およびNO₂による水素原子の直接引き抜き反応(9), (10)も起こるのではないかと考えられる。

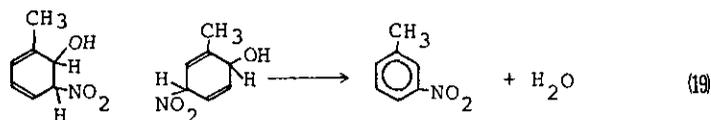
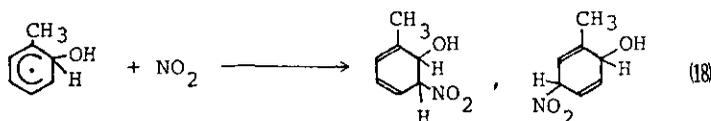
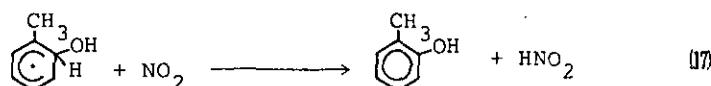
本研究では水溶液中の反応で見出されているヒドロキシ-2,4-ヘキサジエンジアルは見出されなかった。この化合物は水溶液中では反応(7)で生成する4-ヒドロキシ-2,5-シクロヘキサジエニルペルオキシラジカルどうしの二分子反応で生成すると考えられているので、水溶液中よりベンゼン濃度が2桁低い本研究の実験条件下で、この化合物が見出されないのは妥当であると思われる。

NO₂が存在する場合、NO₂は反応(6)で生成する4-ヒドロキシ-2,5-シクロヘキサジエニルラジカルに付加して反応(11)のようにニトロシクロヘキサエノールを中間体として生成し、これからの脱水反応(12)で最終生成物ニトロベンゼンを生成するものと考えられる。ニトロベンゼンの生成はNaNO₃-ベンゼン水溶液の放射線分解において報告されており¹⁵⁾、この場合の生成機構として反応(11)、(12)が考えられている。NO₂の初期濃度と共にフェノールに対するニトロベンゼンの生成比が増加するという本研究の結果は、反応(6)-(12)で提案された反応機構によれば反応(7)、(11)の競争で無理なく説明されるものと思われる。

本研究ではニトロフェノールは微量生成物に過ぎなかった。この結果はNaNO₃-ベンゼン水溶液系の放射線分解¹⁵⁾の結果とよく一致しているが、比較的高濃度領域のベンゼン-NO_x(各~1000ppm)-空気系の光酸化反応^{16,17a)}の結果とは非常に異なっている。後者の実験系ではフェノールの代わりにニトロフェノールが主生成物として報告されているが、これらの実験におけるニトロフェノールは生成物フェノールの二次的ニトロ化反応によって生成したものではないかと考えられる。

トルエン-HNO₂系 トルエン-HNO₂系におけるクレゾール、および*m*-ニトロトルエンの生成機構は、ベンゼンの場合のフェノール、およびニトロベンゼンの生成機構と同様の反応スキームで説明できると考えられるので、次の反応機構を提案する。



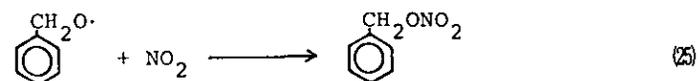
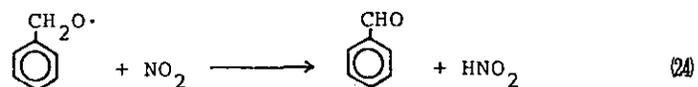
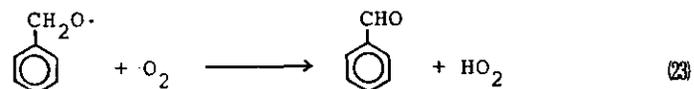
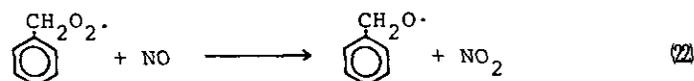
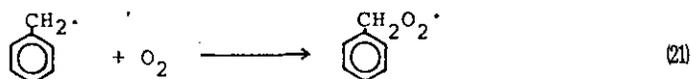
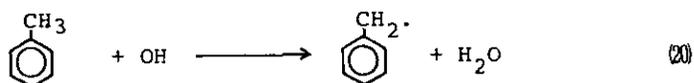


生成するクレゾール内の80%は*o*-クレゾールであり、これは N_2O の水銀光増感で生成した酸素原子とトルエンの反応の場合の結果¹⁸⁾に近い。他方水溶液中での放射線によるトルエンの水酸化反応¹⁹⁾では *m*-、*p*-クレゾールの割合は上の場合よりもずっと大きく、気相におけるOHラジカル、酸素原子の反応の方が水溶液中のOHラジカルの反応より、*o*-位に対する選択性ははるかに大きいことを示している。

上の反応機構によればクレゾールに対する*m*-ニトロトルエンの生成比は NO_2 初期濃度と共に増加するはずであり、これは本研究の実験結果(表2および図4参照)とよく一致している。反応(13)―(19)には示されていないが、OHラジカルが最初にトルエンの*p*-位に付加した場合もニトロトルエンとしては*m*-ニトロトルエンを生成するはずである。これに対し*p*-ニトロトルエンは、最初OHラジカルがトルエンの*m*-位に付加した中間体ラジカルを経て生成する可能性が考えられるが、この場合*o*-ニトロトルエンも同様に生成するものと考えられる。しかし本研究では*o*-ニトロトルエンはほとんど生成されなかった。また NO_2 の初期濃度を増加させた時の*p*-ニトロトルエンの増加は*m*-ニトロトルエンの増加に比べて顕著でなかった。この傾向はエチルベンゼンからの*p*-ニトロエチルベンゼンの生成に対しても見られた。これらのことから、*p*-ニトロトルエンの生成は*m*-ニトロトルエンとは異なる反応機構によるものではないかと考えられるが、本研究ではその機構は明らかにできなかった。

ベンズアルデヒドおよび硝酸ベンジルの生成はベンジルラジカルを中間体として進行しているものと考えられる。トルエンのメチル基からの水素引き抜き反応は、高温では知られており²⁰⁾、また常温における素反応速度定数の測定からも水素引き抜き反応の存在が示唆されている^{6,7)}。トルエンのメチル基中のC-H結合エネルギー²¹⁾は83 kcal/molとiso-ブタン中のtertiary C-H結合エネルギー91 kcal/molよりもはるかに低いので、OHラジカルによる水素引き抜き反応が、ベンゼン環への付加反応と競争し得ることは十分期待される。ベンジルラジカルからのベンズアルデヒドおよび硝酸ベンジルの生成機構としては、前報¹⁾のトルエン- NO_2 系の場合と同様の次のような

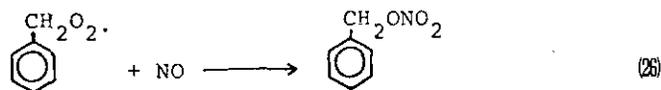
スキームが考えられる。



反応(22)～(25)によるベンズアルデヒドおよび硝酸ベンジルの生成機構は、メチルペルオキシラジカル、およびメトキシラジカルを中間体とするホルムアルデヒド、硝酸メチルの生成機構²⁾との類推から考えられた。

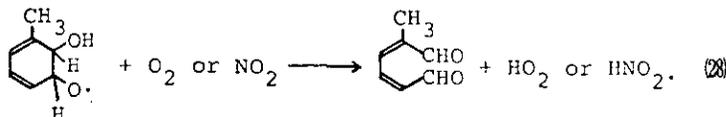
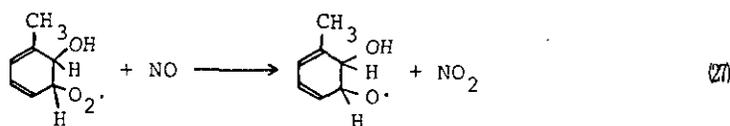
表2に与えられている生成物比がOHラジカルによるメチル基からの水素引き抜きとベンゼン環への付加との比を反映しているものとすれば、[ベンズアルデヒド + 硝酸ベンジル]と[クレゾール + *m*-, *p*-ニトロトルエン]の生成比から、水素引き抜きの割合は25-35%と見積ることができる。Davisら⁶⁾はOHラジカルとトルエンの反応の素反応速度定数の圧力依存性から反応の50%以上は付加反応であると結論し、またPerryら⁷⁾は速度定数の温度依存性から室温では反応の0.16 + 0.07 / -0.05の割合が引き抜き反応であると見積っている。本研究における生成物分析からの上の値は、これらの値と矛盾しないが、OHの付加したラジカルからはクレゾール、ニトロトルエン以外のベンゼン環の開裂した化合物も生成することが予想されるので、上の値はむしろ上限値と考えられる。硝酸ベンジルの生成量は表2にみるようにNO₂の初期濃度と共に増加しないのでDarnallら²²⁾

によって、炭素数4以上の鎖状ペルオキシラジカルに対して提案されたものと類似の反応、



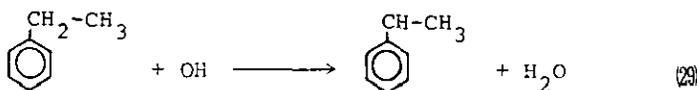
が本実験系でも一部起きているのではないと思われる。

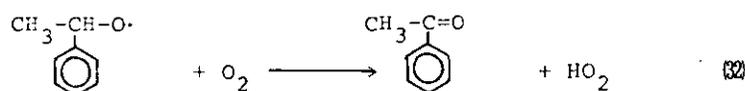
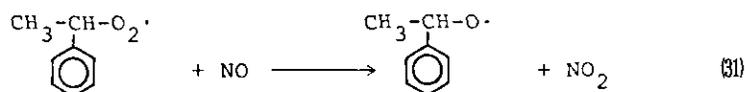
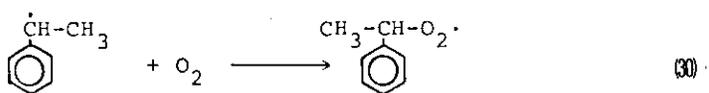
トルエンの光酸化反応生成物中に見出された質量数124, 123, 122, 94, 82, 66, 54のマスピークを与える化合物は、例えば次式で導かれるような型の化合物ではないかとも考えられるが、同定はできなかった。



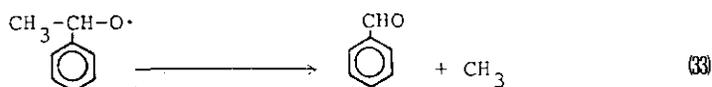
空気の代わりに N_2 を用いた実験では、生成物はクレゾールおよび *m*-, *p*-ニトロトルエンのみであった。ベンズアルデヒドおよび硝酸ベンジルの生成がみられないことは、反応スキーム(13)-(19)および(20)-(25)において、 O_2 が存在しないことから容易に説明することができる。また N_2 中での *m*-ニトロトルエンとクレゾールの生成比は空気よりも約4倍大きかった。このことは O_2 が存在しない場合(14), (15), (16)がクレゾールの生成に寄与しないためであると考えれば、定性的にはスキーム(13)-(19)で良く説明できる。

エチルベンゼン - HNO_2 系 エチルベンゼン - HNO_2 - 空気系での反応生成物の内、エチルフェノールと *m*-, *p*-ニトロエチルベンゼンはOHラジカルのベンゼン環への付加反応で生成するものと考えられ、反応機構はトルエンの場合のスキーム(13)-(19)と同様であろう。アセトフェノンはOHラジカルによる α -水素引き抜きで生ずる1-フェニルエチルラジカルを経由して生成するものと思われ、その生成機構としては次のスキームが考えられる。

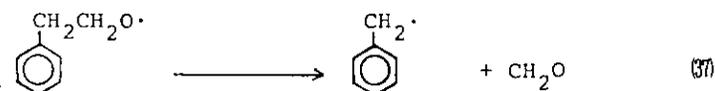
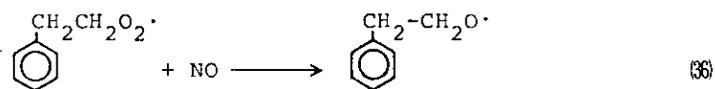
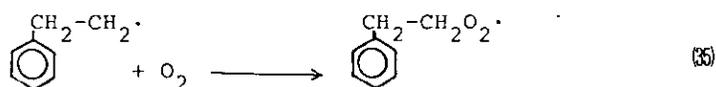
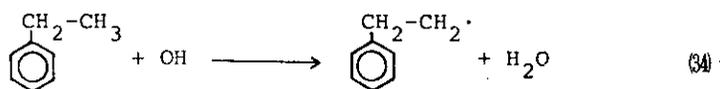




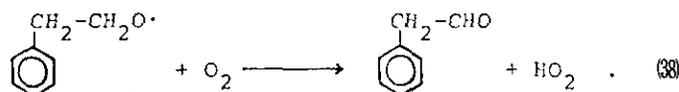
他の主生成物ベンズアルデヒドについては、その生成は次のような1-フェニルエトキシラジカルの分解によるものではないかと考えられる。



アルコキシラジカルのC-C結合切断によってカルボニル化合物を生成する反応は、NO、NO₂の存在下での iso-ブタンの光酸化反応において仮定されている²³⁾。ベンズアルデヒドの生成機構としてはこの他にエチルベンゼン中のエチル基のβ-水素引き抜きによって開始される次のようなスキームが考えられる。



この場合 (7) で生成したベンジルラジカルから式 (2), (2) によってベンズアルデヒドを生成するであろう。しかし、もしこの反応が起こるなら次式によってフェニルアセトアルデヒドも生成するのではないかと思われる。



またベンジルラジカルからはトルエンの場合と同様にして硝酸ベンジルも生成するはずである。しかしエチルベンゼンからはフェニルアセトアルデヒドも、硝酸ベンジルも生成されなかった。これらの実験事実から、本研究の実験条件下では OH ラジカルによるエチルベンゼン中のエチル基の β -水素引き抜き反応はほとんど起こっていないものと結論される。

OH ラジカルによる水素引き抜きによってもたらされる生成物と、ベンゼン環への付加によってもたらされる生成物の生成比はエチルベンゼンの場合、トルエンの場合に比べて著しく増加している。表 3 の最終生成物の分布からは、エチルベンゼンの場合水素引き抜き反応の割合は 60-70% と見積ることができる。この値はトルエンの場合の値、25-35% の約 2 倍である。

大気汚染における重要性 汚染された都市大気中の炭化水素成分としてアルキルベンゼン類がかなり多くの割合を占めていることはよく知られている。例えば Los Angeles 盆地におけるアルキルベンゼン類の平均的割合として約 20% という値が報告されている²⁴⁾。これに対し、我が国における測定値はこれよりかなり高く平均的に 30-35% という値が報告されている^{25, 26)}。従って本研究で見出された光化学二次生成物は光化学汚染大気中でも生成されるはずである。特にフェノール類、芳香族カルボニル化合物、ニトロベンゼン類および硝酸エステルは本研究により 1 ppm 以下の環境濃度に近い NO, NO₂ 濃度に対しても生成することが確かめられたので、実際の大気中でもそれらの生成が予想される。最近花井ら²⁷⁾は横浜の環境大気分析においてベンズアルデヒド、クレゾール、アセトフェノン、安息香酸等を 0.1~10 ppb のレベルで検出している。これらの内安息香酸はベンズアルデヒドが更に二次的に酸化して生成されたものではないかと思われるが、他のものについては本研究において相対的に高濃度で見出された物質によく一致している。

また Nojima ら¹⁶⁾は横浜における雨滴中のニトロクレゾールを検出している。本研究の結果によれば環境濃度付近の NO, NO₂ の下ではニトロクレゾール類は微量生成物にすぎないので、大気中では気相または水滴中におけるクレゾールと NO₂ の二次的反應によってニトロクレゾールが生成しているものと考えられる。

引 用 文 献

- 1) Akimoto, H., Hoshino, M., Inoue, G., Okuda, M., Washida, N., Bull Chem. Soc. Jpn., **51**, 2496 (1978). (本報告書, 報文1参照)
- 2) Heicklen, J., Westberg, K., Cohen, N., in "Chemical Reactions in Urban Atmosphere" ed by C. Tuesday, Elsevier, New York, N.Y. (1971), p. 55.
- 3) Calvert, J.G., McQuigg, R.D., Int. J. Chem. Kinet. Symp., **1**, 113 (1975).
- 4) Wang, C.C., Davis, L.I., Wu, C.H., Jasper, S., Niki, H., Weinstock, W., Science, **189**, 797 (1975).
- 5) Wu, C.H., Wang, C.C., Jasper, S.M., Davis, L.I., Jr., Hanabusa, M., Killinger, D., Niki, H., Weinstock, B., Int. J. Chem. Kinet., **8**, 765 (1976).
- 6) Davis, D.D., Bollinger, W., Fisher, S., J. Phys. Chem., **79**, 293 (1975).
- 7) Perry, R.A., Atkinson, R., Pitts, Jr., J.N., J. Phys. Chem., **81**, 296 (1977).
- 8) Lloyd, A.C., Darnall, K.R., Winer, A.M., Pitts, Jr., J.N., J. Phys. Chem. **80**, 789 (1976).
- 9) Doyle, G.J., Lloyd, A.C., Darnall, K.R., Winer, A.M., Pitts, Jr., J.N., Environ. Sci. Technol., **9**, 237 (1975).
- 10) Cox, R.A., J. Photochem., **3**, 175 (1974).
- 11) Cox, R.A., Derwent, R.G., J. Photochem., **6**, 23 (1976/1977).
- 12) Dorfman, L.M., Taub, I.A., Bühler, R.E., J. Chem. Phys., **36**, 3051 (1962).
- 13) (a) Srinivasan, T.K.K., Balakrishnan, I., Reddy, M.P., J. Phys. Chem., **73**, 2071 (1969).
(b) Balakrishnan, I., Reddy, M.P., J. Phys. Chem., **76**, 1273 (1972).
- 14) Jacob, N., Balakrishnan, I., Reddy, M.P., J. Phys. Chem., **81**, 17 (1977).
- 15) Eberhardt, M.K., J. Phys. Chem., **79**, 1067 (1975).
- 16) Nojima, K., Fukaya, K., Fukui, S., Kanno, S., Chemosphere, **2**, 77 (1975).
- 17) (a) Watanabe, K., Ishikawa, H., Ando, W., Bull Chem. Soc. Jpn., **51**, 1253 (1978);
(b) Ishikawa, H., Watanabe, K., Ando, W., Bull. Chem. Soc. Jpn., **51**, 2173 (1978).
- 18) Gaffney, J.S., Atkinson, R., Pitts, Jr., J.N., J. Am. Chem. Soc., **98**, 1828 (1976).
- 19) Eberhart, M.K., Martinez, M.I., J. Phys. Chem., **79**, 1917 (1975).
- 20) Trotman-Dickenson, A.F., Steacie, E.W.R., J. Chem. Phys., **19**, 329 (1951).
- 21) Calvert, J.G., Pitts, Jr., J.N., "Photochemistry," John Wiley, New York, N.Y. (1966), p. 824.
- 22) Darnall, K.R., Carter, W.P.L., Winer, A.M., Lloyd, A.C., Pitts, Jr., J.N., J. Phys. Chem., **80**, 1948 (1976).
- 23) Heicklen, J., "Atmospheric Chemistry," Academic Press, New York, N.Y., (1976), p. 389.
- 24) Altshuller, A.P., Lonneman, W.A., Sutterfield, F.D., Kopeczynski, S.L., Environ. Sci. Technol., **5**, 1009 (1971).
- 25) Kondo, J., Akimoto, H., Adv. Environ. Sci. Technol., **5**, 1 (1975).
- 26) 加藤竜夫・花井義道・堀本能之・加地浩成, 横浜国立大学環境科学研究センター紀要, **1**, 37 (1974).
- 27) 花井義道・山下 暁・高橋敬子・加藤竜夫, 横浜国立大学環境科学研究センター紀要, **3**, 27 (1977).

IV - 3

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

Analysis of the Reaction Products in the Photooxidation of *o*-, *m*-, *p*-Xylene
by the Gas Chromatograph/Photoionization Mass Spectrometry.

高木博夫¹・鷺田伸明²・秋元 肇²・奥田典夫²

Hiroo TAKAGI¹, Nobuaki WASHIDA², Hajime AKIMOTO² and
Michio OKUDA²

要 旨

光イオン化ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた、キシレンの NO_x による光酸化反応生成物の分析が行われた。反応生成物には高沸点生成物と低沸点生成物が存在し、高沸点生成物として、主にトルアルデヒド、ジメチルフェノールや、ジメチルニトロベンゼン類、低沸点生成物としては、ホルムアルデヒド、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、バイアセチルが検出された。光酸化反応によるキシレンの減少のうち、回収された高沸点生成物は約17%、低沸点生成物は、約45%を占め、予想以上に低沸点生成物が生成している事が分かった。

Abstract

The reaction products in the photooxidation of *o*-, *m*-, *p*-xylene were analysed by a new gas chromatograph/photoionization mass spectrometer. There were two types of reaction products, i.e., high boiling and low boiling products. Tolualdehyde, dimethylphenols and dimethylnitrobenzene were main high boiling products and formaldehyde, acetaldehyde, glyoxal, methylglyoxal and biacetyl were identified as low boiling products. The ratio of the total amount of the high boiling products formed to the amount of the *o*-xylene consumed was about 17%. On the other hand, the low boiling products amounted about 45% of the *o*-xylene consumed. The importance of the cleavage reaction of the aromatic ring was discussed.

1. 国立公害研究所 技術部 〒300-21 茨城県筑波郡谷田部町

The National Institute for Environmental Studies, Division of Engineering,
P.O. Yatabe, Ibaraki, 300-21.

2. 国立公害研究所 大気環境部

The National Institute for Environmental Studies, Division of Atmospheric Environment.

緒 言

都市大気中に比較的高濃度に存在する芳香族炭化水素の中でキシレンはトルエンに次いで多量に存在する事が我が国¹⁾においても米国²⁾においても野外測定から確認されている。さらにキシレンのOHラジカルとの反応に基づく反応性³⁾はトルエンの2~4倍と高く、都市大気的光化学反応において極めて重要な分子であると考えられる。それにもかかわらず、現在までのところキシレンの気相でのNO_xによる光酸化反応過程や生成物は十分に解明されていない。

現在までの研究では各々別に行われた実験により、高沸点化合物と低沸点化合物が、キシレン-NO_x系の光酸化反応で生成すると報告されている。加藤ら⁴⁾は、キシレン(1000mmHg)-NO(1000mmHg)-O₂(1気圧)の混合気体を光照射し、ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて反応生成物の分析を行い、トルアルデヒド、ジメチルキノン、ニトロジメチルフェノール、ニトロクレゾール、ジメチルニトロベンゼン等の高沸点化合物の分析を行った。またNojimaら⁵⁾は、キシレン(1000mmHg)-NO(50~200mmHg)-空気(1気圧)の混合気体の光照射により、グリオキザール、メチルグリオキザール、バイアセチル等の低沸点化合物が反応生成物の中に存在するを見付けた。Nojimaらの用いた分析方法は、湿式法とECDガスクロマトグラフの組み合わせで行ったものである。上記の3種の低沸点化合物のうちバイアセチルは*o*-キシレンの場合にのみ検出されたとNojimaらは報告している。これらの低沸点化合物が生成物に含まれるという事は、キシレンの光酸化の過程でいわゆる環の開裂が起こるという事を意味している。芳香族の環の開裂反応は、複雑な反応生成物を生じるという意味で光化学スモッグの解明に重要な反応であるが、同時に光化学の基礎反応としても極めて興味深い問題である。

本研究では、NO_xによるキシレンの光酸化反応で生じる高沸点、低沸点生成物を同時に測定し、その生成の絶対量の決定を行おうとするものである。さらに反応をなるべく環境濃度に近い条件で行うため、比較的低濃度(高沸点化合物に対しては、キシレン、NOとも20mmHg以下、低沸点化合物に対しては、100mmHg以下)で実験を行うものとする。生成物の分析には新しい方法として当研究室で開発された光イオン化法を用いたガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/PIMS)が用いられている。これは特に低沸点化合物の分析においてその有効性を示した。

実 験

実験に用いられた70ℓバイレックス製反応容器、キセノンアーク光源、試料の混入方法については、本報告書の報文1に詳しく述べてあるのでここでは割愛する。実験はNO(高沸点化合物の実験では2~10mmHg、低沸点では約20mmHg)、H₂O(相対湿度約60%)、空気(1気圧)、キシレン(高沸点化合物の実験では、3~20mmHg、低沸点では約100mmHg)の混合系を光照射して行った。生成物の濃縮方法は、直径5mm、長さ20cmの石英管にシマライトQを充填したU字管を液体窒素で冷却し、ポンプで引きながらそこに試料を一度凝縮させた後、ヒーターで加熱し、試料をガスクロマトグラフ

(GC) またはガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) に直接導入する方法を用いた。報文 1 にある様に、この方法は加熱後濃縮管中で、 NO_2 とキシレンまたは生成物が熱反応を起こす可能性がある。そのため、濃縮管として、直径 2 mm、長さ 4 m のパイレックス製スパイラル管を用い、これを -50°C に冷却したものをを用いてみた。この場合、 NO 、 NO_2 、酸素、さらに低沸点化合物もポンプで排気されるため、高沸点化合物だけしか分析できない。U字管とスパイラル管を用いた際の高沸点化合物は分析の結果、 NO の初期濃度が 10 ppm 程度では、ジメチルフェノールの量にわずかな差異が認められた以外に大きな相異は認められなかった。ここでは低沸点と高沸点生成物を同時に測定する事を目的としているため、濃縮管として主に U字管を用いて分析を行った。GC による生成物の分析は、45~60 分間隔で行い、7~10 回の分析により、反応容器の圧力は 1 気圧から 650 Torr 程度まで減少した。容器の減圧による GC 分析への影響は、あらかじめキャリブレーションが行われ、生成物の絶対量の計算の際には、減圧効果は考慮されている。

生成物の分析は FID ガスクロマトグラフ (GC)、GC/MS、GC/PIMS が用いられているが、GC 分析には SE-30 (3 m) のカラム (50°C から 200°C に $5^\circ/\text{分}$ で昇温) が用いられ、GC/MS と GC/PIMS による分析の場合、高沸点生成物に対しては上記の SE-30、低沸点生成物に対してはポラパック T (2 m) が 150°C で用いられた。生成物の同定は、標準試料を用いて、GC の保持時間、GC/MS のマスパターン、さらには GC/PIMS によって行われた。ここで用いられた新しい GC/PIMS 法⁶⁾ については次章で詳しく述べるが、ここではイオン化の光源として、アルゴンの共鳴線 (11.83, 11.62 eV) が用いられている。

光イオン化ガスクロマトグラフ/質量分析法 (GC/PIMS)

GC/PIMS 法は、質量分析における分子のイオン化の方法として通常の電子衝撃法 (70 eV) に代わって光を用いるものである。この場合光源としては真空紫外部の光が必要であり、アルゴン、クリプトン、キセノン等の希ガスのマイクロ波放電による共鳴線を発光するランプ⁷⁾ が用いられる。アルゴン、クリプトン、キセノンの共鳴線のエネルギーは各々、Ar (11.83, 11.62 eV)、Kr (10.64, 10.03 eV)、Xe (9.57, 8.44 eV) である。またランプの窓板には各々 LiF 、 MgF_2 、 CaF_2 の板が用いられる。

当研究室の GC/PIMS は GC/MS として NEVA, TE-600 四重極型のものを用い、イオン化室に光源を取りつけ、イオンの検出は四重極に対し軸はずしに取りつけたパルス計測用チャンネルトロンを用いている。またデータ計測は System Industries 社の SI-System 150 ミニコンピュータを用いている。この光イオン化 GC/MS のイオン化室と検出系の図は図 1 (a), (b) に示す。なおこの GC/MS は光イオン化と電子衝撃法の両方のイオン化法で用いる事が出来るもので、各々 PI モード、EI モードの切りかえによって作動できるものである。光イオン化質量分析法の他にみられない特徴は、分子がイオン化の threshold 付近のエネルギーで効率よくしかもフラグメン

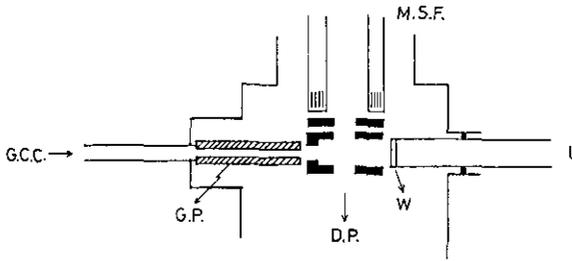


図 1 (a) M.S.F.: 四重極マスフィルター
 G.C.C.: ガスクロマトグラフカラム
 G.P.: ガラスキャピラリー
 D.P.: 油拡散ポンプ
 W: ランプ窓
 L: 光イオン化ランプ

Fig. 1 (a) Schematic diagram of ionization chamber.
 G.C.C.: GC column
 G.P.: glass capillary
 D.P.: oil diffusion pump
 W: lamp window
 L: V.U.V. lamp
 M.S.F.: quadrupole mass filter

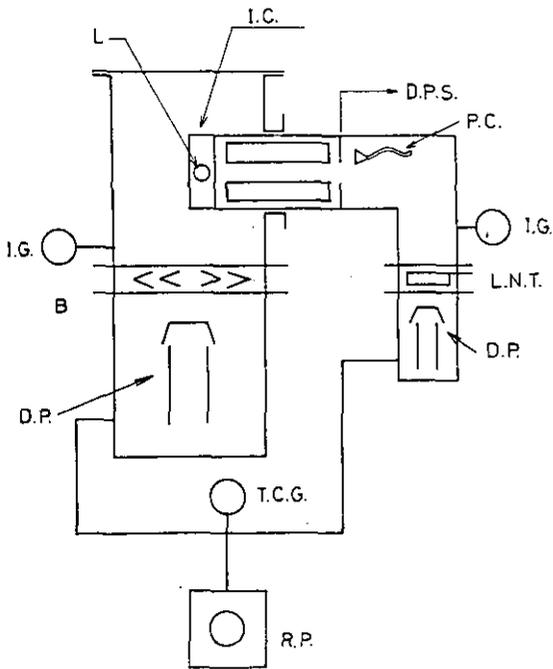


図 1 (b) L: ランプ
 I.C.: イオン化室
 I.G.: イオンゲージ
 B: バッフル
 D.P.: 油拡散ポンプ
 D.P.S.: 差動排気
 P.C.: チャンネルترون
 L.N.T.: 液体窒素トラップ
 R.P.: ロータリーポンプ

Fig. 1 (b) Schematic diagram of GC/PIMS.
 I.C.: ionization chamber
 L: V.U.V. lamp
 I.G.: ionization pressure gauge,
 B: baffle
 D.P.: oil diffusion pump
 T.C.G.: thermocouple pressure gauge
 R.P.: rotary pump
 D.P.S.: differential pumping system
 P.C.: channeltron
 L.N.T.: liquid nitrogen trap

テーションなしにイオン化され得る事である。このフラグメンテーションが起こらない（または起こりにくい）事は、特に圧倒的に濃度の高い親分子中の少量の反応生成物の分析と同定に対して非常に有効な分析機器となる。また光イオン化では threshold 付近の光で分子を有効にイオン化できるので、光のエネルギーの選択によってイオン化電圧の低い分子を選択的にイオン化する事もできる。特に本研究の場合の様に生成物中に多量の水や空気が含まれている場合、アルゴンやクリプトンの共鳴線では水や空気はイオン化されないため、生成物が比較的きれいに分析できるのである。

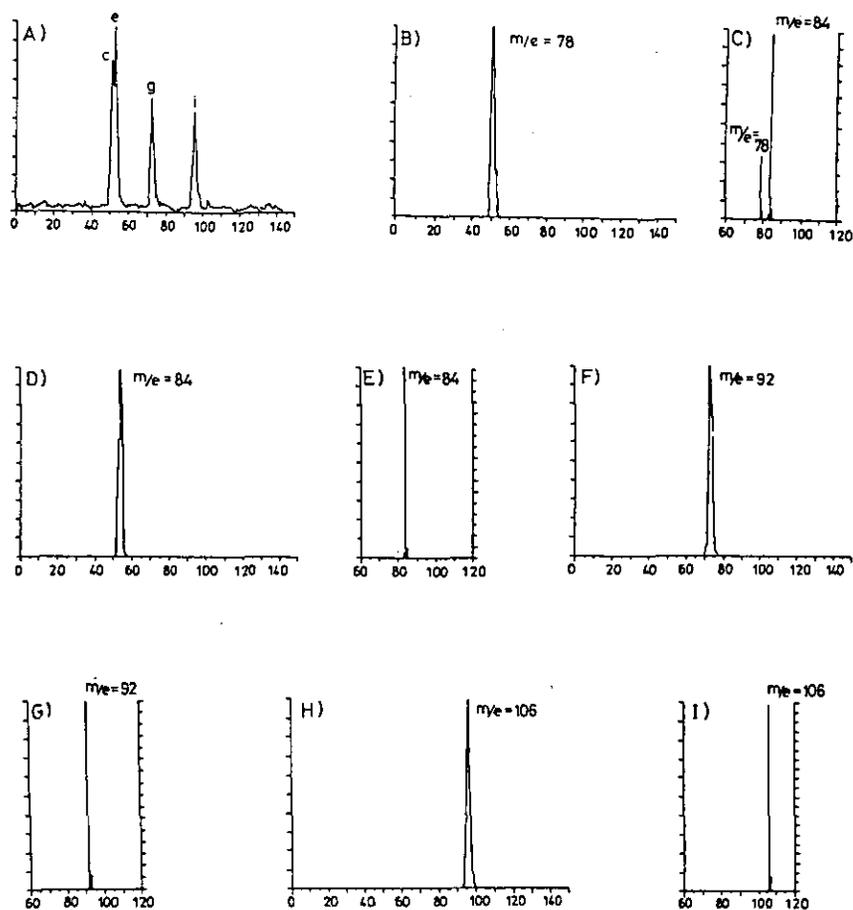


図2 ベンゼン (10%), トルエン (10%), *m*-キシレン (10%), シンクロヘキサ
 ン溶液の TICクロマトグラム(A), マスフラグメントグラム(B)(D)(F)(H) マス
 スペクトル(C)(E)(G)(I) (c.e.g.iピークに対する)
 カラム: SE-30 (2 m), 80~200°C, 5°C/min
 ランプ: クリプトランプ (Mg F₂ 窓)
 注入量: 0.2 μ l

Fig. 2 TIC chromatogram, mass fragmentogram, and mass spectrum for the mix-
 ture of benzene (10%), toluene (10%), and *m*-xylene(10%)/cyclohexane.
 (A) TIC chromatogram. (B), (D), (F), and (H) are mass fragmentograms for
 $m/e = 78, 84, 92,$ and $106,$ respectively. (C), (E), (G), and (I) are mass
 spectrum for peaks c, e, g, and i in (A), respectively.
 Column: SE-30 (2 m).
 Column temp.: 80~200°C, 5°C/min.
 Lamp: Kr lamp (MgF₂).
 Injection: 0.2 μ l.
 Mass scanning range: 60~120.

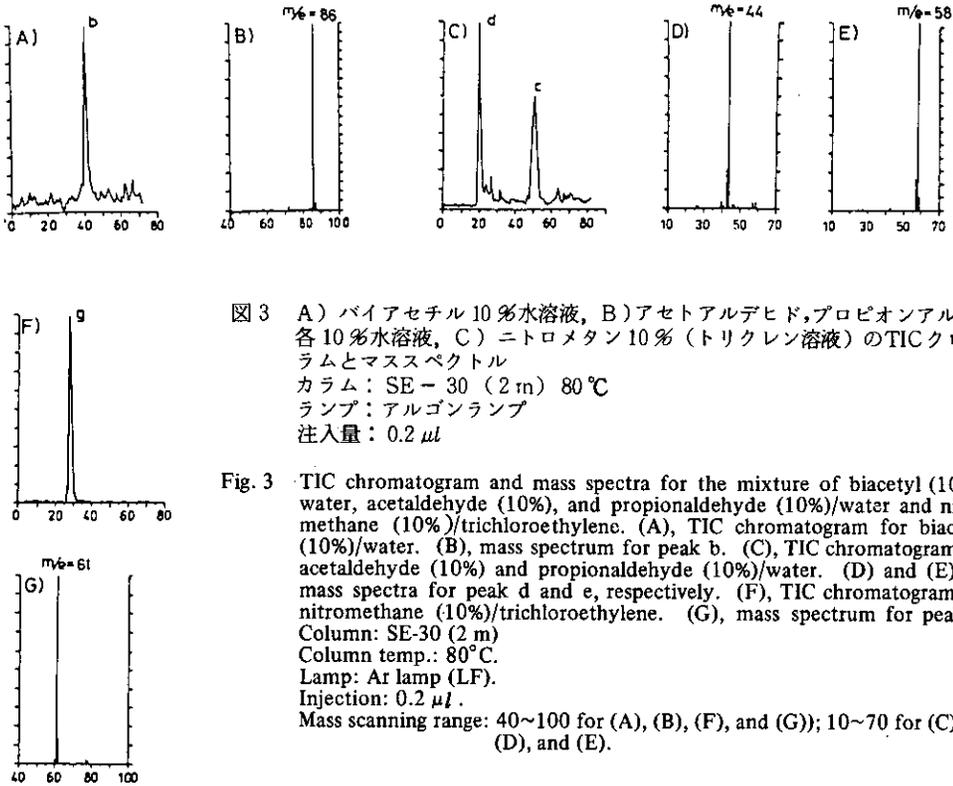


図3 A) バイアセチル 10%水溶液, B)アセトアルデヒド,プロピオンアルデヒド各 10%水溶液, C) ニトロメタン 10% (トリクロレン溶液) のTICクロマトグラムとマススペクトル
 カラム: SE-30 (2 m) 80°C
 ランプ: アルゴンランプ
 注入量: 0.2 μ l

Fig. 3 TIC chromatogram and mass spectra for the mixture of biacetyl (10%/water, acetaldehyde (10%), and propionaldehyde (10%)/water and nitromethane (10%)/trichloroethylene. (A), TIC chromatogram for biacetyl (10%)/water. (B), mass spectrum for peak b. (C), TIC chromatogram for acetaldehyde (10%) and propionaldehyde (10%)/water. (D) and (E) are mass spectra for peak d and e, respectively. (F), TIC chromatogram for nitromethane (10%)/trichloroethylene. (G), mass spectrum for peak g.
 Column: SE-30 (2 m)
 Column temp.: 80°C.
 Lamp: Ar lamp (LF).
 Injection: 0.2 μ l.
 Mass scanning range: 40~100 for (A), (B), (F), and (G)); 10~70 for (C), (D), and (E).

この GC/PIMS による測定例は図 2, 3 に示してある。イオン化の光源は、図 2 ではクリプトンの共鳴線、図 3 ではアルゴンの共鳴線が用いられている。図 2 はベンゼン、トルエン、*m*-キシレンの各 10% シクロヘキサン溶液を 0.2 μ l 注入したもので、A) は TIC クロマトグラム、B), D), F), H) は各質量のマスフラグメントグラム、C), E), G), I) は各ピーク (c, e, g, i) のマススペクトルである。この場合ピーク C のようにシクロヘキサンとベンゼンのピークが重なっているような場合にも両者の親イオンがきれいに検出されている。また各マススペクトルに $m+1$ のイオンが小さく検出されているが、これは ^{13}C によるアイソトープイオンである。また図 3 は A), バイアセチル (10%水溶液), B), アセトアルデヒドおよびプロピオンアルデヒド (各 10%水溶液), C), ニトロメタン (トリクロレン中 10%) を各々 0.2 μ l 注入した際の TIC クロマトグラムとマススペクトルである。この場合水やトリクロレンはアルゴンの共鳴線でイオン化されないため、溶媒のスペクトルは観測されない。

種々の有機化合物のこの GC/PIMS に対する感度 (S/N ~ 3 に対する) は表 1 に示す。得られた感度は電子衝撃法に比べてかなり劣るものであるが、主に親イオンしか生成しないという点で有効に用いる事ができる。

表1 光イオン化GC/MS に対する有機化合物の感度 (S/N ~ 3 に対する)

Table 1. Sensitivities of Organic Compounds to S/N ~ 3

Compounds	I.P. (eV)	GC column (m), Temp.	Lamp (window) energy, eV	Sensitivity to S/N ~ 3, ng
Benzene	9.24	SE-30 (2 m) 80 ~ 200°C	Kr(MgF ₂) 10.64 eV (20%) 10.03 eV (80%)	100
Toluene	8.82			100
<i>m</i> -Xylene	8.56			100
Benzaldehyde	9.51			150
<i>m</i> -Cresol	8.52			100
2, 4-Xylenol				150
Nitrobenzene	9.92			250
<i>m</i> -Nitrotoluene	9.65			250
Nitrocresol				250
Cyclohexane	9.88			500
<i>n</i> -Hexane	10.18			600
Acetone	9.69			200
Cyclohexane	9.88			200
<i>n</i> -Hexane	10.18			200
Formaldehyde	10.90			Porapak-T (2 m) 150°C
Acetaldehyde	10.21	SE-30 (2 m) 80°C	300	
Propionaldehyde	9.98		300	
Nitromethane	11.08		300	
Glyoxal	9.48	Porapak-T (2 m) 150°C	800	
Biacetyl	9.23	SE-30 (2 M) 80°C	300	

結果

o-キシレン/NO/水/空気の混合系を光照射した際の生成物のF. I. D. ガスクロマトグラムを図4に示す。図4は初期濃度が*o*-キシレン1.07 ppm, NO 2 ppmであり, SE-30 (3 m) カラムを用い50°C ~ 200°Cに昇温している。この場合検出された生成物は, 主にバイアセチル, トルアルデヒド, ジメチルフェノール (2.3 -, 3.4 -), *o*-メチルベンジルナイトレイト, ジメチルニトロベンゼン (主に3.4 -) であり, その他少量のジメチルベンゾキノン, ジメチルニトロフェノールが見い出された。これらの生成物は, EI, PI のGC/MS のマススペクトル, またGCの保持時間から同定された。バイアセチルより低沸点生成物は, SE-30カラムでは保持時間が短すぎるため, ポラパック T (2 m, 150°C) を用いて, F. I. D. ガスクロマトグラフによる分析を試みたが, 生成物のGCに対する感度が悪い事, 大量の水が生成物と共にトラップされ, 水のバックグラウンドが非常に大きく出る事, の二点によりF. I. D. ガスクロマトグラフによる分析は不可能であった。

図4で検出された生成物は照射時間5 ~ 6時間に対しほぼ直線的に増加した。図5にその一例を示す。また検出された各生成物の生成量と, *o*-キシレンの減少量の比を表2に示す。表2には*o*-キシレンとNOの初期濃度, 全照射時間, 照射時間の間に行ったサンプリングの回数, *o*-キシレンの最終濃度, 各生成物の生成量とキシレンの減少量の比の平均値 (サンプリング回数に対する) が各々示されている。バイアセチルは低沸点化合物に属するが, F. I. D. ガスクロマトグラフで高沸点化合物と共に測定されるので表2に入れてある。ここで計算された生成物の生成量 (濃度), キ

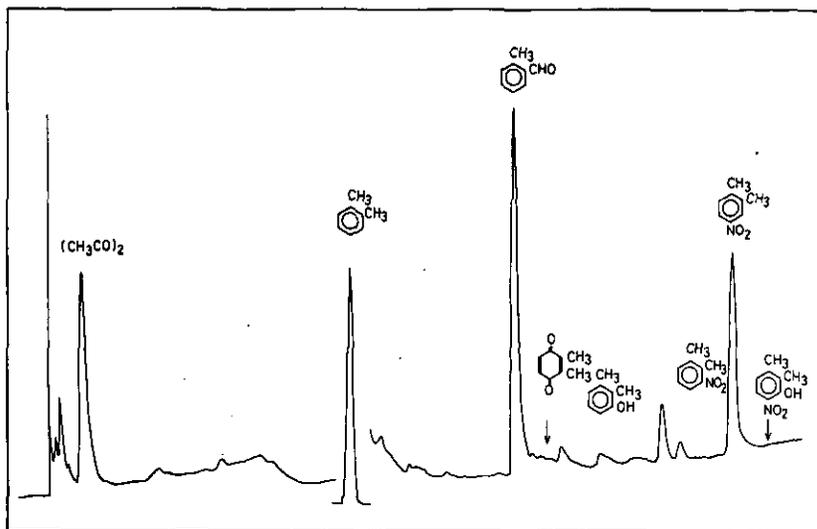


図4 *o*-キシレン(10.7ppm)/NO(2ppm)/水/空気系の光酸化反応生成物のF.I.D. ガスクロマトグラム

Fig. 4 F.I.D. Gas Chromatogram for the reaction products in the photooxidation of the *o*-xylene (10.7ppm)/NO(2ppm)/H₂O/air mixture.

表2 *o*-キシレン/NO/水/空気混合系の光照射による高沸点生成物の生成量とキシレンの減少量の比

Table 2. Ratio of the Amount of the High Boiling Products formed to the Amount of *o*-Xylene consumed in the Photooxidation of *o*-Xylene/NO/H₂O/Air System.

Initial Concentration <i>o</i> -Xylene (ppm)	NO (ppm)	Total Irradiation Time (min)	Number of Sampling	Final Concentration of <i>o</i> -Xylene (ppm)	Δ Product - Δ <i>o</i> -Xylene				
					Tolualdehyde	Dimethylphenol	3, 4-Dimethylnitrophenol	2, 3-Dimethylnitrophenol	Biacyl
21.9	10.6	311	6	20.5	0.116	0.020	0.136	0.005	0.183
11.1	9.5	242	6	8.0	0.056	0.009	0.073	0.007	0.232
3.5	10.0	317	7	2.6	0.034	0.012	0.062	0.004	0.214
10.7	2.0	292	6	8.9	0.086	0.005	0.028	0.002	0.409
Average					0.073±0.036	0.012±0.006	0.075±0.045	0.005±0.002	0.260±0.102
					Total High Boiling Products 16.5%.				

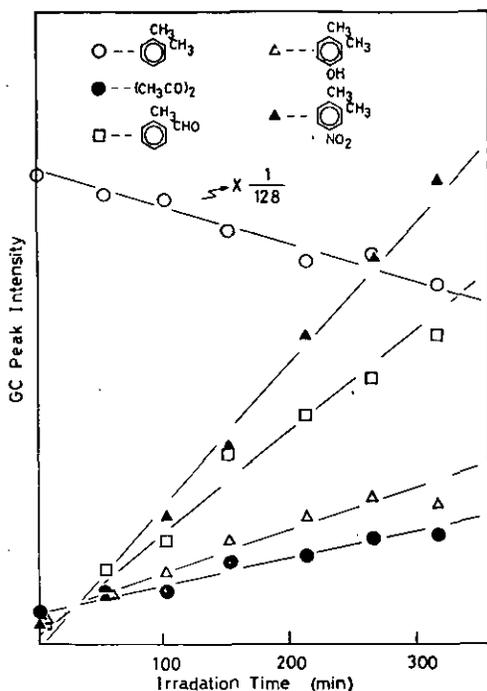


図5 F. I. D. ガスクロマトグラムによって測定された *o*-キシレン (3.5 ppm) / NO (10 ppm) / 水 / 空気系の光酸化反応生成物の照射時間に対する相対収量

Fig. 5 Relative yields of the products measured by F.I.D. Gas Chromatograph vs. irradiation time in the photooxidation of the *o*-xylene (3.5 ppm)/NO (10 ppm)/H₂O/air system.

キシレンの減少量(濃度)は共に各成分の F. I. D. ガスクロマトグラフのピーク面積, 標準サンプルによって求めた各成分の GC に対する感度, さらに反応容器のサンプリングによる圧力減少の GC の感度に対する影響等の補正を考慮に入れて計算された値である。表 2 には *o*-メチルベンジルナイトレイトが示されていないが, これには標準サンプルが無く, 感度計算が出来なかった事と, 生成量が比較的少量であるため他の生成物に対して無視出来ると考えたため計算をしなかった事による。計算された生成物の量とキシレンの減少量の比はやや分散しているが, 表に示した平均値によると, キシレンの全減少量の約 17% が高沸点生成物(バイアセチルを除いた)となっている事が示された。勿論表に示された以外に生成物が存在する可能性があり, 上記の生成物も 100% サンプリングされているとは限らないが, この値はキシレンの光酸化反応における高沸点生成物の生成量に対するある程度の目安になると考えられる。

低沸点生成物に対しては, 先に述べた様に, F. I. D. ガスクロマトグラフが使えないため, GC/

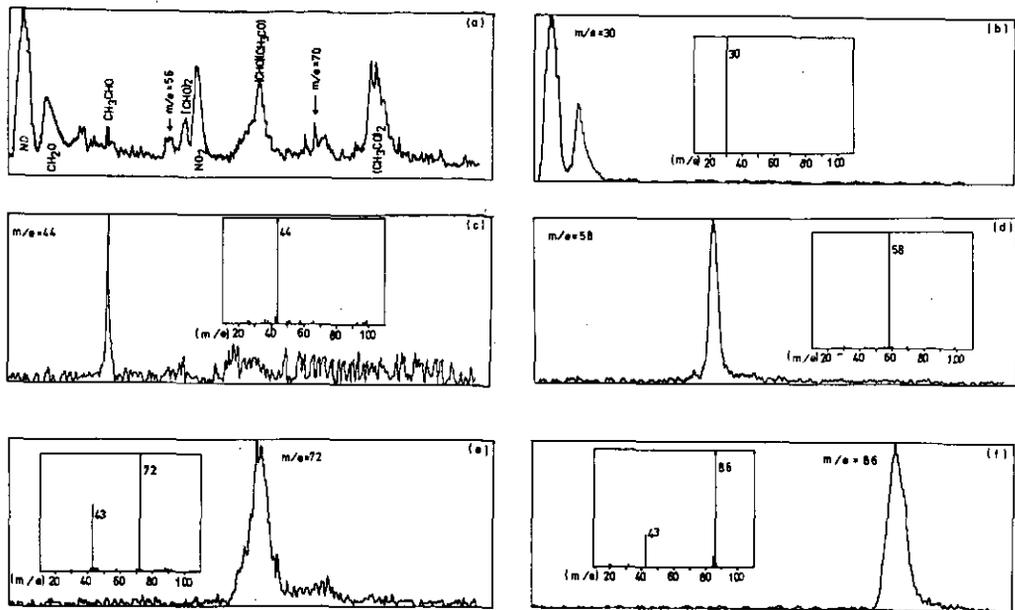


図6 GC/PIMSによる o -キシレン (100 ppm)/NO (20 ppm)/水/空気系
酸化反応による低沸点生成物の分析
(a); TIC クロマトグラム
(b)(c)(d)(e)(f); 各質量のマスフラグメントグラムと各ピークのマスペクトル

Fig. 6 Analysis of the low boiling products formed in the photooxidation of o -xylene (100 ppm)/NO (20 ppm)/H₂O/air system by the GC/PIMS.
(a); TIC chromatogram
(b) (c) (d) (e) (f); mass fragmentogram for each m/e and mass spectrum for each peak.

PIMS を用いて分析が試みられた。 o -キシレン/NO/水/空気の混合系を光照射した際の GC/PIMS による TIC クロマトグラム、各質量のマスフラグメントグラム、マスペクトルを 図 6 に示す。ここで用いられたカラムはポラパック T (2 m, 150°C) である。この場合、通常の電子衝撃 (70 eV) による EI モードによる GC/MS を用いた測定も試みたが、サンプル中の大量の水と空気 (主に酸素) が大きなバックグラウンドとなり測定不可能であった。図 6 に示された生成物はほとんどが GC/PIMS に対して、マスペクトルは強い親イオンを与え、その質量数と標準サンプルによる GC の保持時間から、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、グリオキサール、メチルグリオキサール、バイアセチルが各々生成している事が分かった。また上記の 5 種の低沸点生成物の他に、同定は出来なかったが少なくとも 2 種の生成物が存在している痕跡が見られた。一つは質量数 56 でアクロレインの可能性が大きい、標準サンプルを注入した際、保持時間が完全

に一致していないため、決定出来なかった。もう一つは GC/PIMS で質量数70を示す生成物で硝酸エステルか亜硝酸エステルのフラグメントイオンとも考えられるが、これも同定されなかった。ただ両物質とも、TIC クロマトグラムではそのピークは余り大きくなかった。

ホルムアルデヒド、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、バイアセチルの4種の生成物に対しては、同一感度でのマスフラグメントグラムのピーク面積と、標準サンプルを用いて測られた上記4種の生成物の GC/PIMS に対する感度比から、その生成量(濃度)の比が計算された。(メチルグリオキザールは標準サンプルが無い場合、感度として、グリオキザールとバイアセチルの平均値を用いた。)計算結果は表3にまとめてある。GC/PIMS による分析は、F.I.D. ガスクロマトグラフやEI モードによる GC/MS に比べて感度が悪い場合、生成物の濃度を高めざるを得ず、*o*-キシレン、NO ともその初期濃度は表2の場合に比べて高くなっている。また生成物のサンプリングも一度に大量に行うため、一度の実験に対してサンプリングは一回だけ行われた。6回の測定による上記4種の生成物の生成量の比の平均値は、表3の下段に示してある。*m*-、*p*-キシレンに対しても同様な実験が行われたが、高沸点化合物に対しては、生成物に同位体の違いがある他、生成物の量が多少異なっていたが、大まかにいって、*o*-キシレンの場合と類似していた。また低沸点生成物は、バイアセチルが生成せず、ホルムアルデヒド、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が検出された。またメチルグリオキザールの量は、*o*-キシレンの場合に比較して増加していた。*m*-、*p*-キシレンの場合、バイアセチルが生成されないため、高沸点生成物と低沸点生成物の測定において、F.I.D.ガスクロマトグラフで共通に検出される生成物が無く、両者を定量的に結びつける事は出来なかった。

表3 GC/PIMS分析による、*o*-キシレン/NO/水/空気系光酸化による低沸点生成物の生成量(濃度)の比(バイアセチルを1とした)

Table 3. Ratio of the Amount of the Low Boiling Products formed in the Photooxidation of *o*-Xylene/NO/H₂O/Air System. Measurements were done by the GC/PIMS.

Initial Concentration <i>o</i> -Xylene (ppm)	NO (ppm)	Irradiation Time (min)	Ratio of Amount of the Low Boiling Products formed (Normalized to Biacetyl)				
			CH ₂ O	CH ₃ CHO	(CHO) ₂	(CHO)(CH ₃ CO)	(CH ₃ CO) ₂
98.8	19.5	341	0.49	0.09	1.97	0.25	1
98.8	19.5	600	1.08	0.31	2.51	0.27	1
99.2	19.5	510	2.31	0.38	3.10	0.95	1
96.0	19.8	321	not measured	0.47	5.07	0.92	1
104.3	19.8	392	0.60	0.16	5.40	0.45	1
106.4	19.8	346	0.42	0.14	3.44	0.30	1
		Average	0.098±0.79	0.26±0.15	3.28±1.31	0.52±0.33	1

考 察

o-キシレンの光酸化の場合、表2と表3を結び合わせる事によって、キシレンの減少量に対する高沸点生成物と低沸点生成物の生成量の比を計算する事が出来る。表2に示したように、o-キシレンの減少量に対するバイアセチルの生成量の比の平均値は0.26であるから、表3の低沸点生成物の生成量の比の平均値を用いて、キシレンの減少量に対する低沸点生成物の生成の割合を推定出来る。表4にその結果を示す。表4の最上段には、表3で求められた低沸点生成物の生成量の比(平均値)、二段目には、表2に示したバイアセチルの生成量とo-キシレンの減少量の比(平均値0.26)を用いて計算した各低沸点化合物の生成量とo-キシレンの減少量の比が示されている。この場合、各成分の合計が1.57となり、低沸点生成物が濃度計算でキシレンの減少量の157%生成している事になる(先に述べた様に高沸点生成物は16.5%)。これは低沸点生成物の炭素数がキシレンの炭素数より少ないためで、例えばもし減少したキシレンが全てホルムアルデヒドになるとすれば最大800%という値になる訳である。ここで表4の三段目に各低沸点生成物の炭素数とキシレンの炭素数の比を示しておいた。低沸点生成物の生成量とキシレンの減少量の比をこの炭素数で規格化した値すなわち表の二段目の数値と三段目の数値の積が最下段に示してある。この最終段の数値の合計が減少したキシレンが低沸点生成物になる割合を示す事になる。得られた値は表4にあるように、44.5%となった。

表4 o-キシレンの減少量に対する低沸点生成物の生成割合

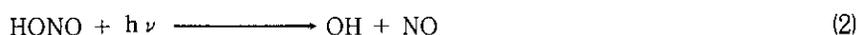
Table 4. Ratio of the Amount of the Low Boiling Products formed to the Amount of o-Xylene consumed.

	CH ₂ O	CH ₃ CHO	(CHO) ₂	(CHO)(CH ₃ CO)	(CH ₃ CO) ₂	Total
Averaged Ratio of Low Boiling Products (from Table 3)	0.98	0.26	3.28	0.52	1	
$\frac{\Delta \text{Product}}{-\Delta \text{o-Xylene}}$	0.25	0.07	0.85	0.14	0.26	1.57
Ratio of C-Atom Number to o-Xylene	1/8	2/8	2/8	3/8	4/8	
Yields Normalized by C-Atom Number	0.031	0.018	0.213	0.053	0.130	0.445

表2, 3にある通り, ここでは高沸点生成物の実験と低沸点生成物の実験の実験条件(初期濃度)がかなり異なっている。このような条件下での二つの実験をつなぎ合わせる事は少なからず危険をはらんでいる。特に, 光酸化過程で, 炭化水素の初期濃度が高く, NOの初期濃度が低い場合, オゾンの生成とその蓄積がより早く起こる。Nojimaら⁵⁾はグリオキザール, メチルグリオキザール, バイアセチルの生成がオゾンとキシレンの反応に起因していると仮定しているが, 図5に示すとおり, 少なくともバイアセチルは, 反応の開始より直線的に増加している事からオゾン反応によるとは考えられない。また他の生成物もバイアセチルと同様, オゾン反応ではなく後に述べるように, OHラジカルの反応による芳香族環の開環反応に起因して起こるのではないかと考えられる。

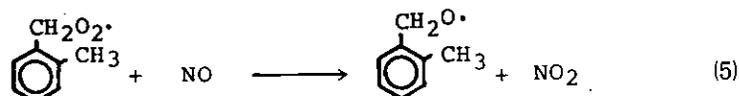
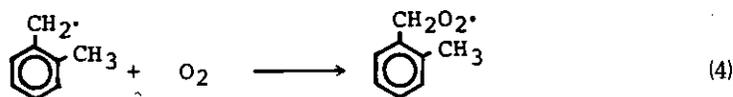
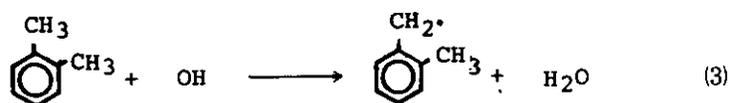
高沸点生成物の生成量の比は, ニトロ化合物の量を除いては花井ら⁸⁾の報告と極端な相異は無いと考えられる。またo-キシレンの減少量に対する高沸点生成物の量の比も花井らの報告とおよそ等しい。他方グリオキザール, メチルグリオキザール, バイアセチルの生成量の比に関しては, 我々の結果とNojimaら⁵⁾の結果とはかなりの差がある。上記3種の生成量の比が我々の結果では3.3 : 0.5 : 1であるのに対し, Nojimaらの結果ではo-キシレンの場合およそ, 0.2 : 2.5 : 1である。もしこれら3種の生成物がo-キシレンの開環反応で生成するとし, 開裂がベンゼン環に対して確率的に起こるとすれば, その比は, 3 : 2 : 1となるはずである。我々はメチルグリオキザールのGC/PIMSに対する感度として, グリオキザールとバイアセチルの平均値を用いているが, そこに問題があるのかも知れない。

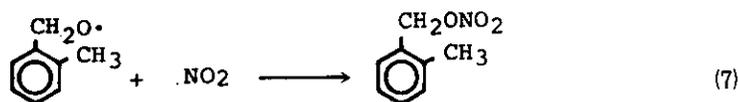
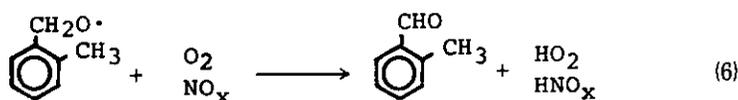
ここで用いられたNO/水/空気系では, 光酸化反応の開始は, NO, NO₂, 水の平衡によるHONOの光分解によるOHラジカルによって反応は開始されると考えられる。



ここで生成したOHラジカルがキシレンのメチル基から水素原子引き抜き反応を起こす場合, トルアルデヒド, およびメチルベンジルナイトレイトが生成する。

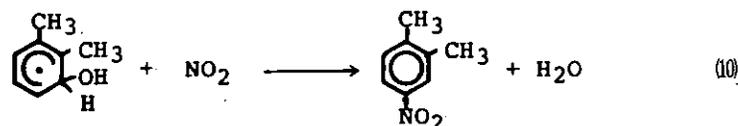
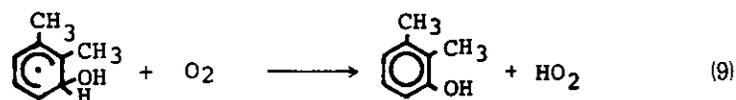
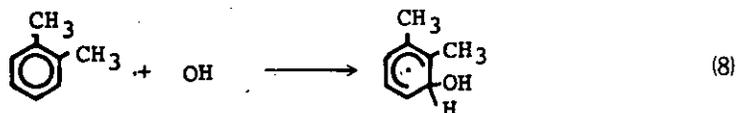
Scheme 1





また OH ラジカルがキシレンの環に付加反応を起こした場合、ジメチルフェノール、ジメチルニトロベンゼンが生成すると考えられる。

Scheme 2



キシレン類の光酸化反応が高沸点化合物を生成する過程だけで進むとすれば、(3)~(10)の反応で明らかかな様に、いわゆる光酸化過程で起こる NO を NO₂ に変換する反応は、キシレンが 1 分子消滅する間に 2 分子以上起こらない事になる。このキシレン 1 分子消滅する間に NO が NO₂ に何分子変換されるかという実験が、低濃度のキシレン/NO/水/空気系で行われた⁹⁾。図 7 に *m*-キシレンの場合の光酸化によるキシレン、NO、NO_x の減少の様子が示してある。図 7 のキシレンと NO の減少量の比から、キシレンの光酸化過程で、キシレン 1 分子が消滅する間に、NO が何分子 NO₂ に変換されているかが求められた。その結果、*o*-、*m*-、*p*-キシレンに対し、2.1~3.4 個の NO が NO₂ に変換されている事が判明した⁹⁾。この変換効率の良さは、まさにキシレンが光酸化過程で開裂反応を起こし、その開裂によるフラグメント分子がやはり NO を NO₂ に変換する酸化反応に寄与している事を示唆している。キシレンの開裂反応に関しては細かい点は全く不明であり、またいくつかの過程が考えられると思うが、例えば次のような反応で開裂が開始するのではないかと考えられる。

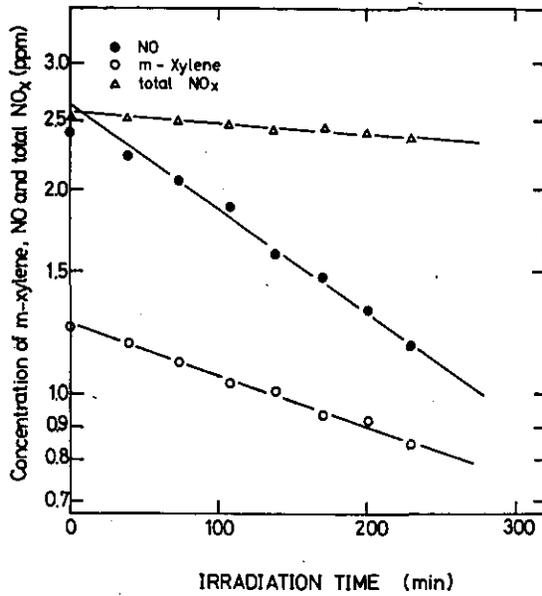
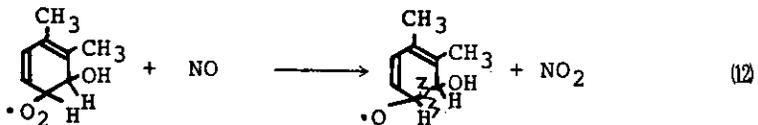
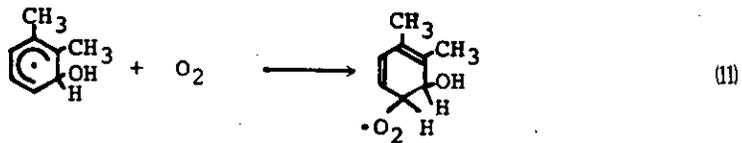
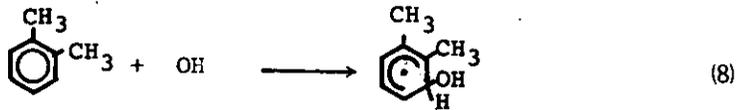


図7 *m*-キシレン/NO/水/空気系の光酸化による *m*-キシレン, NO, NO_x の減少

Fig. 7 Concentrations of NO (●), *m*-xylene (○), and total NO_x (△) are plotted against irradiation time.

Scheme 3



以上をまとめるとキシレンの光酸化過程に関し、以下の事柄についての知見と予見を得た事になる。

- 1) キシレンは NO_x による光酸化過程で高沸点生成物と、低沸点生成物を生成する。
- 2) 低沸点生成物の生成量は、通常予想されている以上に多い。
- 3) 低沸点生成物の生成は、キシレンの光酸化の過程で NO を NO₂ に変換する効率をより早めて

いる。

- 4) 低沸点生成物の生成はキシレンの環の開裂反応によると考えられるが、この事は反応の二次生成物の種類をより複雑にし、未だ検出されていない新しい複雑な二次生成物が生成されている可能性を秘めている。

謝 辞

本研究を行うにあたって御協力をいただいた茨城大学助教授、本研究所客員研究員、臼井義春氏、並びに茨城大学学生であった長沢克己氏に深く感謝します。

引 用 文 献

- 1) (a) 伊藤宣夫・中野欣嗣・泉川碩雄・広野富雄・舟島正直・朝来野国彦・小林温子・早福正孝・横田久司・大平俊男, 東京都公害研究所, 東京スモッグに関する調査研究, 第3報, (1974), p. 307.
(b) 近本武次・迫田吉之助, 大気汚染研究 12, 389 (1977).
(c) 中土井隆・田中正宣・神浦俊一・岡二知夫, 第18回大気汚染研究全国協議会大会要旨集, p. 324, 1977, 福岡市.
- 2) Lonneman, W.A., Bellar, T.A. and Altschuller, A.P., Environ. Sci. Technol., 2, 1017 (1968).
- 3) Darnall, K.R., Lloyd, A.C., Winer, A.M. and Pitts, Jr., J.N., Environ. Sci. Technol., 10, 692 (1976).
- 4) 加藤龍夫・花井義道, 横浜国立大学環境科学研究センター紀要 2, 1, (1976).
- 5) Nojima, K., Fukaya, K., Fukui, S. and Kanno, S., Chemosphere, 5, 247 (1974).
- 6) Washida, N., Akimoto, H., Takagi, H. and Okuda, M., Anal. Chem., 50, 910 (1978).
- 7) Gordon, R., Rebbert, R.E. and Ausloos, P., "Rare Gas Resonance Lamps", Natl. Bur. Std. (U.S.), Tech. Note, 496 (1969).
- 8) 花井義道・山本 暁・高橋敬子・加藤龍夫, 第18回大気汚染研究全国協議会大会要旨集, p. 190, 1977, 福岡市.
- 9) Washida, N., Inoue, G., Akimoto, H. and Okuda, M., Bull. Chem. Soc. Jpn., 51, 2215 (1978).

IV - 4

トルエンと窒素酸化物の光酸化反応生成物の
培養細胞に及ぼす影響*

Effects of Photooxidation Products in the Toluene-Nitrogen
Oxides-Air System on Cultured Cells

白石不二雄¹・清水不二雄¹・久保田憲太郎¹

Fujio SHIRAISHI¹, Fujio SHIMIZU¹ and Kentaro KUBOTA¹

要 旨

トルエンと窒素酸化物の光酸化反応生成物の HeLa および WI-38 細胞の増殖に及ぼす影響は、重複培養法により検索した。

反応物質であるトルエンは、50 - 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で HeLa 細胞の増殖を促進する作用が認められた。二次生成物は、25 - 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で HeLa 細胞の増殖を抑制する作用が認められ、それら化合物の処理 2 日目の 50% 増殖抑制濃度を列記すると、*o*-クレゾール 163 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、*m*-クレゾール 276、*p*-クレゾール 51、ベンズアルデヒド 80、*o*-ニトロトルエン 340、*m*-ニトロトルエン 260、*p*-ニトロトルエン 172、硝酸ベンジル 142、4-ニトロ-*m*-クレゾール 58、2-ニトロ-*m*-クレゾール 441、2-ニトロ-*p*-クレゾール 366 であった。また WI-38 細胞に対する増殖抑制作用は、HeLa 細胞の場合とほぼ同様であり、著明な感受性の差は認められなかった。HeLa 細胞において、*o*-クレゾール、*p*-クレゾール、ベンズアルデヒドおよび *m*-ニトロトルエンでは、処理 2 日目より処理 4 日目の増殖率が高くなる傾向がみられた。しかし、*o*-ニトロトルエン、硝酸ベンジルおよびニトロクレゾールでは、処理 2 日目より処理 4 日目の増殖率が低くなる傾向がみられた。

化合物の HeLa 細胞の形態に及ぼす影響について検討した。ほとんどの化合物で細胞質の変性が認められ、*o*-クレゾール、*p*-クレゾール、*m*-ニトロトルエンおよび硝酸ベンジルにおいて多核細胞の出現が認められた。

* 本論文の要旨は第19回大気汚染学会（1978年9月、札幌）にて発表。

1. 国立公害研究所 環境生理部 〒300-21 茨城県筑波郡谷田部町

The National Institute for Environmental Studies, Division of Basic Medical Sciences,
P.O. Yatabe, Ibaraki, 300-21

Abstract

The effects of photooxidation products in the toluene-nitrogen oxides-air system on cell growth were investigated by replicate culture method, using HeLa S3 cells and WI-38 cells. Toluene stimulated the growth of HeLa cells in examined concentration (50–200 $\mu\text{g/ml}$ of the medium). All the examined compounds in the photooxidation products inhibited the growth of HeLa cells in examined concentration (25–500 $\mu\text{g/ml}$), and fifty per cent inhibitory dose (ID_{50}) for cell growth of those was determined. The values of ID_{50} ($\mu\text{g/ml}$ of the medium) of examined compounds for HeLa cells at the second day after treatment were as follows; *o*-cresol 163; *m*-cresol 276; *p*-cresol 51; benzaldehyde 80; *o*-nitrotoluene 340; *m*-nitrotoluene 260; *p*-nitrotoluene 172; benzyl nitrate 142; 4-nitro-*m*-cresol 58; 2-nitro-*m*-cresol 441; 2-nitro-*p*-cresol 366. Those for WI-38 cells were approximately the same as those for HeLa cells. The nitro-compounds in examined compounds except for *m*- and *p*-nitrotoluene showed stronger inhibition for growth of HeLa cells at the fourth day after treatment than at the second day.

Morphological examination of HeLa cells revealed that all the examined compounds induced various extents of cytoplasmic degeneration, and *o*-cresol, *p*-cresol, *m*-nitrotoluene and benzyl nitrate brought on polynuclear cells.

緒言

光化学スモッグの生体影響については、その主汚染物質と考えられるオゾン (O_3) の生体暴露実験等により検討がなされてきた。しかし、光化学汚染大気中には O_3 以外にも生体に対して急性あるいは慢性に毒性を示す可能性のある物質が存在することが予想される。

花井ら¹⁾ は任意に採取した大気試料からも、多くの炭化水素の存在を確認し、特にベンズアルデヒド、クレゾール、アセトフェノン、安息香酸等の二次汚染物質とみなされる芳香族誘導体が検出されたと報告している。一方、Hoshinoら²⁾ はトルエンと窒素酸化物の光酸化反応実験で、クレゾール、ベンズアルデヒド、ニトロトルエン、硝酸ベンジルおよびニトロクレゾール等が生成されることを報告している。

大気汚染物質の培養細胞を用いての影響検索については、二酸化窒素 (NO_2) の代わりに亜硝酸ナトリウムによる培養細胞の酸素消費量への影響を検討した Roundsら³⁾ の報告や、 O_3 、 NO_2 、 SO_2 等のガス状物質の培養細胞への直接暴露 (10分間) による細胞の生死および突然変異の有無について検討した Fetner⁴⁾ および磯村ら⁵⁾ の報告等がある。しかし、光化学汚染大気中から検出される炭化水素が培養細胞に及ぼす影響に関する検索を試みた報告は、我々の知る限りでは見あたらず、わずかに炭化水素の培養細胞を用いての影響検索として、ニトロ化合物の electron affinic sensitization に関する研究や^{6,7,8,9)}、発ガン性の認められる多環芳香族の代謝に関する研究¹⁰⁾ が見られる程度である。

今回、我々は光化学汚染大気中に存在する炭化水素の生体に及ぼす影響検索の一環として、Hoshinoら²⁾ の試みたトルエンと窒素酸化物の光酸化反応実験で検出された化合物 (二次生成物質) の

培養細胞の増殖と形態に及ぼす影響について、HeLa細胞を用いて検討した。

さらにWI-38細胞を用いて細胞種による感受性の差を比較検討したので報告する。

実験材料および方法

1) 使用細胞および細胞培養液

細胞増殖への影響の検索には、HeLa S3細胞およびWI-38細胞の2種類を用い、細胞の形態変化の観察にはHeLa S3細胞を使用した。

HeLa細胞の培養にはEagle's MEM (ニッスイ) に2mMのL-グルタミンおよび仔牛血清 (Flow Labo., Australia) 10%を添加し、 NaHCO_3 でpHの調製を行い培養液とした。またWI-38細胞の培養には、牛胎児血清 (Flow Labo.) 10%を添加し、他はHeLa細胞の培養液の調製法に従った。

2) 供試化合物

細胞増殖に及ぼす影響を検討した化合物は、光酸化反応実験に使用された反応物質のトルエンと、二次生成物質として検出・同定されたクレゾール、ベンズアルデヒド、ニトロトルエン、硝酸ベンジル、ニトロクレゾールおよびそれらの異性体を含む12種類であった (表1)。

表1 供試化合物

Table 1 Compounds tested in this experiment.

Compound		Mol. wt.
Toluene (Wako, Japan)	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$	92.14
<i>o</i> -Cresol	} (Tokyo Kasei, Japan)	108.14
<i>m</i> -Cresol		
<i>p</i> -Cresol		
Benzaldehyde (Wako)	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CHO}$	106.13
<i>o</i> -Nitrotoluene	} (Wako)	137.14
<i>m</i> -Nitrotoluene		
<i>p</i> -Nitrotoluene		
Benzyl nitrate (Dr. M.Hoshino ^a)	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{ONO}_2$	153.14
4-Nitro- <i>m</i> -cresol	} (Aldrich, U.S.A.)	153.14
2-Nitro- <i>m</i> -cresol		
2-Nitro- <i>p</i> -cresol		

^a This Institute, Division of Atmospheric Environment.

o-クレゾール, p-クレゾール, ベンズアルデヒド, m-ニトロトルエン, 硝酸ベンジルおよび4-ニトロ-m-クレゾールの6種類の化合物については, 細胞の形態に及ぼす影響についても併せ検討した。

なお, 硝酸ベンジルは当研究所 大気環境部 星野幹雄氏により合成されたものを, 他の化合物は市販のものを使用した。

3) 化合物含有培養液の調製

化合物 100, 200あるいは250 mgを秤量し, 再蒸留水 500 mlに加え一夜室温で激しく振とう後, 所要濃度に再蒸留水で希釈調製した。調製された溶液に Eagle's MEM 粉末を添加・溶解後, メンブランフィルター(孔径 0.22 μm)で濾過滅菌し血清およびL-グルタミンを添加, NaHCO₃で pHを調製した。

化合物含有培養液は調製後すみやかに実験に供された。

4) 細胞増殖への影響の検索

化合物の細胞増殖への影響の検索は重複培養法¹¹⁾で行った。すなわち, HeLa および WI-38 細胞の約 $2 \sim 3 \times 10^4$ cells/ml の細胞浮遊液を試験管に 3 ml ずつ分注し, 37°C で単層培養を行った。HeLa 細胞は培養 1 日目に, WI-38 細胞は培養 2 日目に培養液を化合物含有培養液に交換し, 以後培養液の更新なしで 2 日間および 4 日間培養を行った。なお, 対照群として化合物を含まない培養液で同様な操作を行った。

培養液交換後, 培養 2 日目および 4 日目に各群 5 検体につき培養液 1 ml あたりの各細胞数を電気式細胞数算定器 (Coulter Counter 社, モデル Industrial D) で算定し, その平均値を求めた。化合物の細胞増殖への影響の指標として, 対照群に対する処理群の細胞増殖の百分率, すなわち細胞増殖百分率 (以下増殖率と略記) を次式にて求めた。

$$\frac{Bt - A_0}{Ct - A_0} \times 100$$

A₀ : 培養液交換時の細胞数 (cells/ml)

B_t : 化合物含有培養液へ交換後 2 日目 (処理 2 日目) あるいは 4 日目 (処理 4 日目) の細胞数 (cells/ml)

C_t : 化合物を含まない培養液へ交換後 2 日目あるいは 4 日目の細胞数 (cells/ml)

さらに, 増殖抑制作用の認められた化合物については, 化合物の濃度とその際得られる増殖率から回帰直線式を求め, 50%増殖抑制濃度 (以下 ID₅₀ と略記) を算定した。

5) 細胞形態変化の観察

化合物の HeLa 細胞の形態に及ぼす影響の検索は細胞増殖への影響の検索と同様な方法で行った。

試験管の中に短冊状のカバーガラス (8 × 21mm) を入れ, 化合物で処理後 2 日目および 4 日目にカバーガラスを取り出し表面に付着した細胞に常法に従って May-Grünwald-Giemsa 染色をほど

として鏡検した。

表 2 - 1 化合物の HeLa 細胞の増殖に及ぼす影響

Table 2-1 Effects of compounds on growth of HeLa cells.

Compound Concentration ($\mu\text{g/ml}$ of medium)	2-Day after treatment		4-Day after treatment	
	Cell number ^a (Mean \pm S.D.)	% Change of cell growth	Cell number (Mean \pm S.D.)	% Change of cell growth
Toluene	(Cell number at the time of treatment: 4.67 \pm 0.08)			
0	12.50 \pm 0.63	100	22.59 \pm 1.27	100
50	13.17 \pm 0.29	112	24.56 \pm 0.88	110
100	13.73 \pm 0.29	113	25.41 \pm 0.85	114
150	13.99 \pm 0.33	115	27.46 \pm 1.27	125
200	14.20 \pm 0.36	118	27.90 \pm 1.22	127
<i>o</i> -Cresol	(Cell number at the time of treatment: 5.04 \pm 0.07)			
0	15.12 \pm 0.30	100	33.17 \pm 1.02	100
50	13.55 \pm 0.24	84	35.17 \pm 0.30	107
100	11.47 \pm 0.46	64	29.33 \pm 0.70	86
150	10.25 \pm 0.13	52	21.06 \pm 0.65	57
200	9.28 \pm 0.22	42	14.67 \pm 0.14	34
<i>m</i> -Cresol	(Cell number at the time of treatment: 4.68 \pm 0.07)			
0	13.89 \pm 0.08	100	29.50 \pm 1.03	100
200	10.64 \pm 0.36	65	22.27 \pm 0.40	71
300	8.99 \pm 0.13	47	12.74 \pm 0.20	32
400	6.50 \pm 0.39	20	5.82 \pm 0.33	5
500	4.31 \pm 0.07	-	2.90 \pm 0.22	-
<i>p</i> -Cresol	(Cell number at the time of treatment: 5.04 \pm 0.07)			
0	14.74 \pm 0.18	100	34.38 \pm 0.65	100
25	12.16 \pm 0.41	73	30.70 \pm 0.49	87
50	9.66 \pm 0.34	48	23.18 \pm 0.71	62
75	8.02 \pm 0.18	31	18.34 \pm 0.22	45
100	6.07 \pm 0.14	11	12.35 \pm 0.22	25
Benzaldehyde	(Cell number at the time of treatment: 4.67 \pm 0.08)			
0	12.50 \pm 0.63	100	22.59 \pm 1.27	100
50	8.43 \pm 0.18	59	20.45 \pm 0.84	89
100	6.76 \pm 0.21	41	14.18 \pm 0.34	58
150	6.43 \pm 0.04	37	9.26 \pm 0.56	33
200	5.02 \pm 0.37	23	6.78 \pm 0.38	20
<i>o</i> -Nitrotoluene	(Cell number at the time of treatment: 6.92 \pm 0.06)			
0	18.60 \pm 0.77	100	54.90 \pm 0.61	100
150	17.33 \pm 0.18	89	33.82 \pm 0.32	56
200	16.14 \pm 0.43	79	27.68 \pm 1.02	43
250	14.72 \pm 0.48	67	20.76 \pm 0.36	29
300	13.76 \pm 0.39	59	20.18 \pm 0.44	28

^a Number of cells per 1 ml of medium counted by electric cell counter ($\times 10^4$ cells/ml).

表 2 - 2 化合物の HeLa 細胞の増殖に及ぼす影響

Table 2-2 Effects of compounds on growth of HeLa cells.

Compound Concentration ($\mu\text{g/ml}$ of medium)	2-Day after treatment		4-Day after treatment	
	Cell number ^a (Mean \pm S.D.)	% Change of cell growth	Cell number (Mean \pm S.D.)	% Change of cell growth
<i>m</i> -Nitrotoluene (Cell number at the time of treatment: 6.42 \pm 0.16)				
0	16.85 \pm 0.29	100	35.57 \pm 0.64	100
150	13.39 \pm 0.33	67	29.21 \pm 0.62	78
200	13.10 \pm 0.36	64	28.72 \pm 0.63	77
250	11.65 \pm 0.50	50	24.29 \pm 0.58	61
300	10.86 \pm 0.21	43	20.22 \pm 0.46	47
<i>p</i> -Nitrotoluene (Cell number at the time of treatment: 6.42 \pm 0.16)				
0	16.85 \pm 0.29	100	35.57 \pm 0.64	100
100	14.16 \pm 0.24	74	30.88 \pm 0.65	84
150	12.16 \pm 0.25	55	25.25 \pm 0.29	65
200	10.81 \pm 0.48	42	19.25 \pm 0.48	44
250	9.02 \pm 0.54	25	14.22 \pm 0.86	27
Benzyl nitrate (Cell number at the time of treatment: 4.70 \pm 0.06)				
0	12.97 \pm 0.24	100	31.71 \pm 0.69	100
25	13.91 \pm 0.91	111	31.12 \pm 0.61	98
50	13.18 \pm 0.26	103	25.33 \pm 0.12	76
75	12.34 \pm 0.30	92	20.40 \pm 0.49	58
100	10.40 \pm 0.20	69	11.01 \pm 0.54	23
4-Nitro- <i>m</i> -cresol (Cell number at the time of treatment: 6.54 \pm 0.07)				
0	18.83 \pm 0.65	100	40.29 \pm 1.68	100
25	18.10 \pm 0.33	94	26.99 \pm 0.50	61
50	13.39 \pm 0.23	56	5.36 \pm 0.62	-
75	8.79 \pm 0.18	18	7.55 \pm 0.15	3
100	8.05 \pm 0.16	12	6.30 \pm 0.25	-
2-Nitro- <i>m</i> -cresol (Cell number at the time of treatment: 5.20 \pm 0.13)				
0	17.24 \pm 0.10	100	42.16 \pm 1.66	100
100	18.00 \pm 0.25	106	43.81 \pm 2.83	104
200	17.78 \pm 0.37	104	36.67 \pm 0.32	85
300	15.84 \pm 0.46	88	21.50 \pm 0.23	44
400	12.59 \pm 0.22	61	14.02 \pm 0.30	24
2-Nitro- <i>p</i> -cresol (Cell number at the time of treatment: 5.76 \pm 0.18)				
0	15.86 \pm 0.23	100	39.47 \pm 1.14	100
100	17.46 \pm 0.32	116	35.55 \pm 0.33	88
200	16.31 \pm 0.75	104	25.42 \pm 0.26	58
300	12.72 \pm 0.22	69	15.65 \pm 0.27	29
400	9.54 \pm 0.17	37	9.70 \pm 0.14	12

^a Number of cells per 1 ml of medium counted by electric cell counter($\times 10^4$ cells/ml).

表3 化合物の HeLa細胞に対する50%増殖阻止濃度
 Table 3 The fifty per cent growth inhibitory dose of compounds for HeLa cells.

Compound	50 % Growth inhibitory dose ($\mu\text{g/ml}$ of medium)	
	2 Days after treatment	4 Days after treatment
<i>o</i> -Cresol	163 ($r=0.986^a$, $y=-0.28x+96^b$)	167 ($r=0.998$, $y=-0.52x+137$)
<i>m</i> -Cresol	276 ($r=0.993$, $y=-0.23x+112$)	258 ($r=0.995$, $y=-0.33x+135$)
<i>p</i> -Cresol	51 ($r=0.997$, $y=-0.81x+91$)	68 ($r=0.997$, $y=-0.81x+105$)
Benzaldehyde	80 ($r=0.975$, $y=-0.22x+68$)	125 ($r=0.985$, $y=-0.46x+108$)
<i>o</i> -Nitrotoluene	340 ($r=0.997$, $y=-0.20x+119$)	169 ($r=0.955$, $y=-0.20x+83$)
<i>m</i> -Nitrotoluene	260 ($r=0.974$, $y=-0.17x+94$)	297 ($r=0.955$, $y=-0.22x+115$)
<i>p</i> -Nitrotoluene	172 ($r=0.998$, $y=-0.32x+105$)	188 ($r=0.999$, $y=-0.38x+122$)
Benzyl nitrate	142 ($r=0.969$, $y=-0.55x+128$)	77 ($r=0.989$, $y=-0.97x+125$)
4-Nitro- <i>m</i> -cresol	58 ($r=0.964$, $y=-1.14x+116$)	30 ($r=-^c$, $y=-2.44x+122$)
2-Nitro- <i>m</i> -cresol	441 ($r=-^c$, $y=-0.27x+169$)	303 ($r=0.981$, $y=-0.31x+143$)
2-Nitro- <i>p</i> -cresol	366 ($r=0.982$, $y=-0.27x+150$)	237 ($r=0.993$, $y=-0.26x+111$)

^a Correlation coefficient in examined concentration.

^b Regression line.

^c Unable to calculate.

実験結果

1) HeLa細胞の増殖に対する化合物の影響

HeLa細胞の増殖に対する化合物の影響を検討した結果を、表2および図1~6に示し、また増殖抑制作用の認められた化合物の ID_{50} を表3に示す。

a. トルエン

トルエンは処理2日目では、50 - 200 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で細胞増殖に対して促進作用がみられ、濃度が高くなるにつれてその作用は強くなる傾向が認められた。また処理4日目では、処理2日目よりさらに高い増殖率を示した(図1)。

b. クレゾール

o-クレゾールの50 $\mu\text{g/ml}$ の濃度では、処理2日目は増殖抑制作用がみられたが、4日目には逆に軽度の促進作用を示し、100 $\mu\text{g/ml}$ の濃度でも4日目の増殖率の方が、抑制されてはいるが、2日目に比べより高いという傾向が認められた。*p*-クレゾールでは、同様にして25 - 100 $\mu\text{g/ml}$

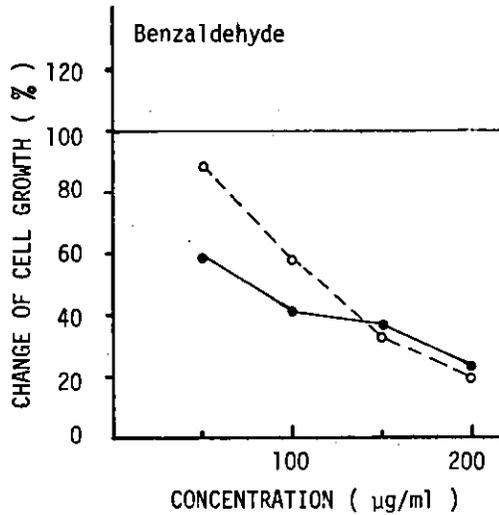


図1 トルエンの処理2日目(●)および処理4日目(○)のHeLa細胞の増殖に及ぼす影響(表2-1より)

Fig. 1 Effects of toluene on growth of HeLa cells. (from Table 2-1).
●; 2 days after treatment, ○; 4 days after treatment.

の濃度で、処理2日目に比べ4日目の方の増殖率が高い傾向が認められた。しかし、*m*-クレゾールでは、100 µg/mlの濃度では処理4日目の増殖率の方がやや高いという傾向が認められたが、300 µg/mlならびに400 µg/mlでは、逆に4日目の増殖率がより低い傾向であった(図2)。

c. ベンズアルデヒド

ベンズアルデヒドは50-200 µg/mlの濃度範囲で、濃度依存性の増殖抑制作用がみられ、50 µg/mlおよび100 µg/mlの濃度では、処理2日目に比べ4日目の増殖率が高くなる傾向がみられ、100 µg/ml以下の濃度で処理日数の増加につれ、増殖抑制作用の低下する傾向が認められた(図3)。

d. ニトロトルエン

ニトロトルエンの3種類の異性体(*o*-、*m*-、*p*-体)とも100-300 µg/mlの濃度範囲で濃度依存性の増殖抑制作用がみられ、処理2日目のID₅₀は、*o*-ニトロトルエン 340 µg/ml、*m*-ニトロトルエン 260 µg/ml、*p*-ニトロトルエン 172 µg/mlであり、*p*-ニトロトルエンが他の異性体に比べやや強い増殖抑制作用を示した。処理日数による増殖への影響は、*o*-ニトロ

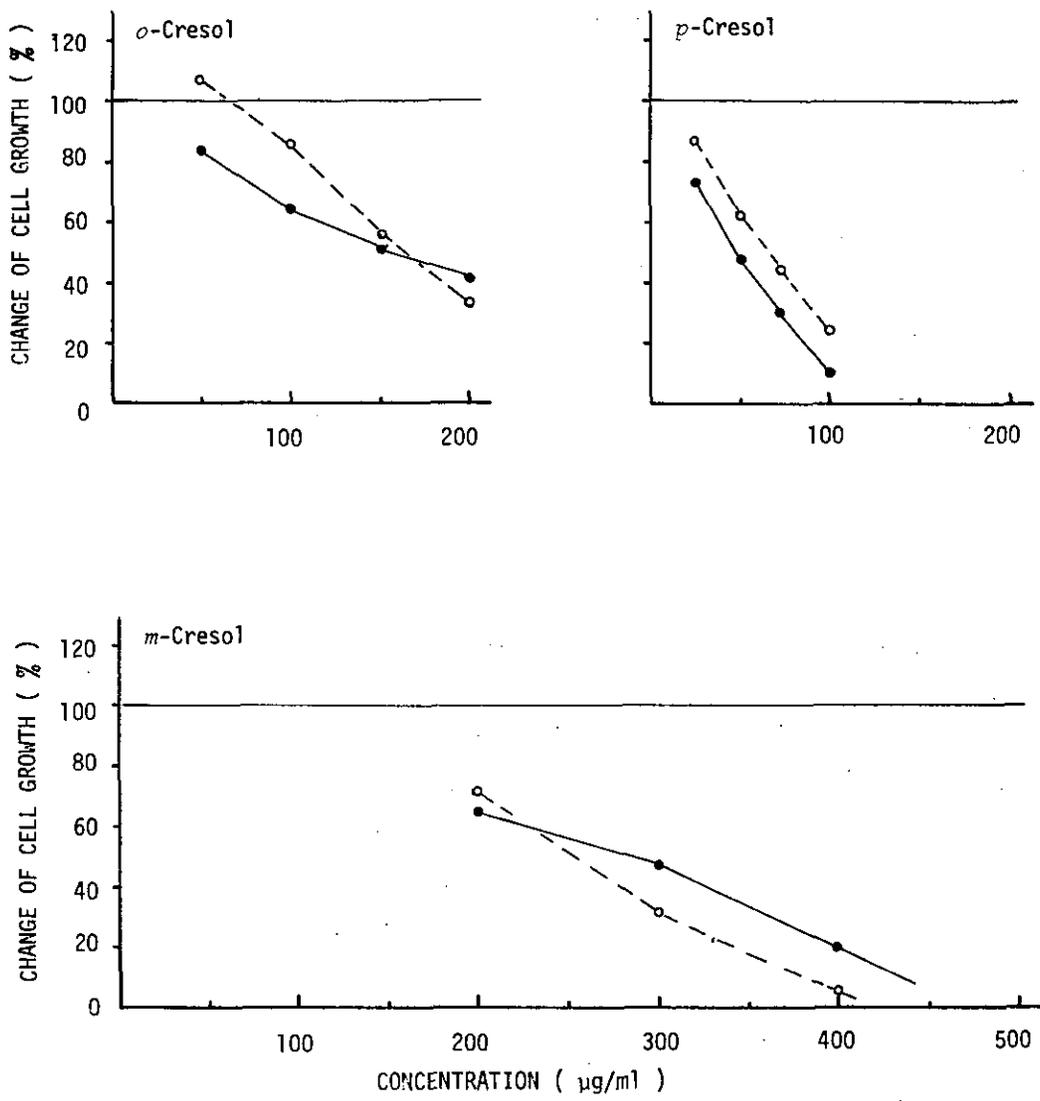


図2 クレゾールの処理2日目(●)および処理4日目(○)のHeLa細胞の増殖に及ぼす影響(表2-1より)

Fig. 2 Effects of cresol on growth of HeLa cells. (from Table 2-1).
●; 2 days after treatment, ○; 4 days after treatment.

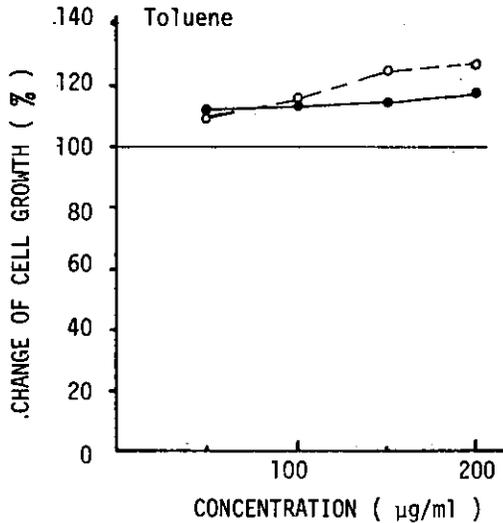


図3 ベンズアルデヒドの処理2日目(●)および処理4日目(○)のHeLa細胞の増殖に及ぼす影響(表2-1より)

Fig. 3 Effects of benzaldehyde on growth of HeLa cells. (from Table 2-1).
●; 2 days after treatment, ○; 4 days after treatment.

トルエンでは処理2日目の ID_{50} に比べ、4日目は約2分の1とより著明な増殖抑制作用が認められた。しかし、*m*-ニトロトルエンでは処理2日目より4日目の増殖率が高くなる傾向がみられ、細胞増殖の回復が認められた。*p*-ニトロトルエンは、処理2日目に比べ4日目の増殖率がやや高くなる傾向がみられたが、 ID_{50} にはほとんど差が認められなかった(図4)。

e. 硝酸ベンジル

硝酸ベンジルは、処理2日目では25 µg/mlの濃度で増殖促進作用がみられ、50 µg/mlの濃度では対照群と同程度の増殖率を示し、75 µg/ml、100 µg/mlの濃度では濃度依存性の増殖抑制作用が認められた。一方、処理4日目は、25 µg/mlの濃度では対照群と同程度の増殖率を示したが、50-100 µg/mlの濃度では濃度依存性の増殖抑制作用がみられ、処理2日目に比べ増殖率は低く、 ID_{50} は約2分の1に減少した(図5)。

f. ニトロクレゾール

ニトロクレゾールの3種類の異性体は、25-400 µg/mlの濃度範囲で増殖抑制作用がみられ、処理2日目の ID_{50} は4-ニトロ-*m*-クレゾール 58 µg/ml、2-ニトロ-*m*-クレゾール 441

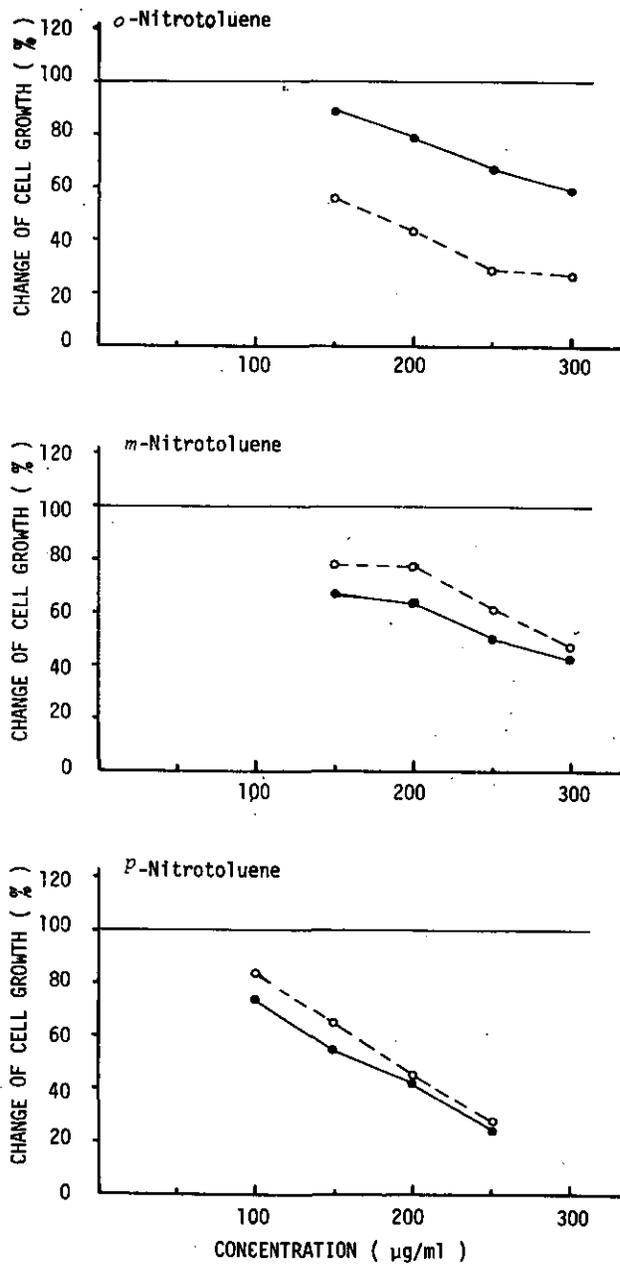


図4 ニトロトルエンの処理2日目(●)および処理4日目(○)のHeLa細胞の増殖に及ぼす影響(表2-1, 2-2より)

Fig. 4 Effects of nitrotoluene on growth of HeLa cells. (from Table 2-1 and 2-2).
●; 2 days after treatment, ○; 4 days after treatment.

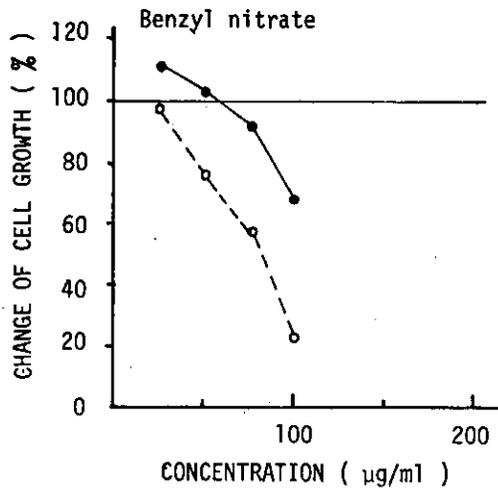


図5 硝酸ベンジルの処理2日目(●)および処理4日目(○)のHeLa細胞の増殖に及ぼす影響(表2-2より)

Fig. 5 Effects of benzyl nitrate on growth of HeLa cells. (from Table 2-2).
●; 2 days after treatment, ○; 4 days after treatment.

µg/ml, 2-ニトロ-*p*-クレゾール 366 µg/ml であり, 4-ニトロ-*m*-クレゾールの増殖抑制作用が最も強く, 明らかに他の異性体と毒性の差が認められた。処理日数の増殖への影響は, 3種類の異性体とも処理2日目に比べ4日目の増殖率が低くなる傾向にあり, 特に2-ニトロ-*p*-クレゾールの100 µg/mlの濃度では, 処理2日目の増殖率は対照群より高いが, 処理4日目では逆に低く, 処理日数の増加とともに増殖抑制作用が発現してくることが認められた(図6)。

これらの結果から, 反応物質のトルエンは50-200 µg/mlの濃度では, 細胞毒性(増殖抑制作用)は認められず, 他の化合物(二次生成物質)は25-500 µg/mlの濃度範囲で細胞毒性(増殖抑制作用)を示した。また細胞毒性の認められた化合物は, 化合物間あるいは異性体間(クレゾール, ニトロクレゾール)に毒性の差が認められた。

o-クレゾール(50-100 µg/ml), *p*-クレゾール(25-100 µg/ml), ベンズアルデヒド(50-100 µg/ml)および*m*-ニトロトルエン(150-300 µg/ml)は, 処理日数の増加につれ増殖抑制作用の低下する傾向が認められ, 逆に*o*-ニトロトルエン(150-300 µg/ml), 硝酸ベンジル(25-100 µg/ml), 4-ニトロ-*m*-クレゾール(25-100 µg/ml), 2-ニトロ-*m*-クレゾール(200-400 µg/ml)および2-ニトロ-*p*-クレゾール(100-400 µg/ml)は,

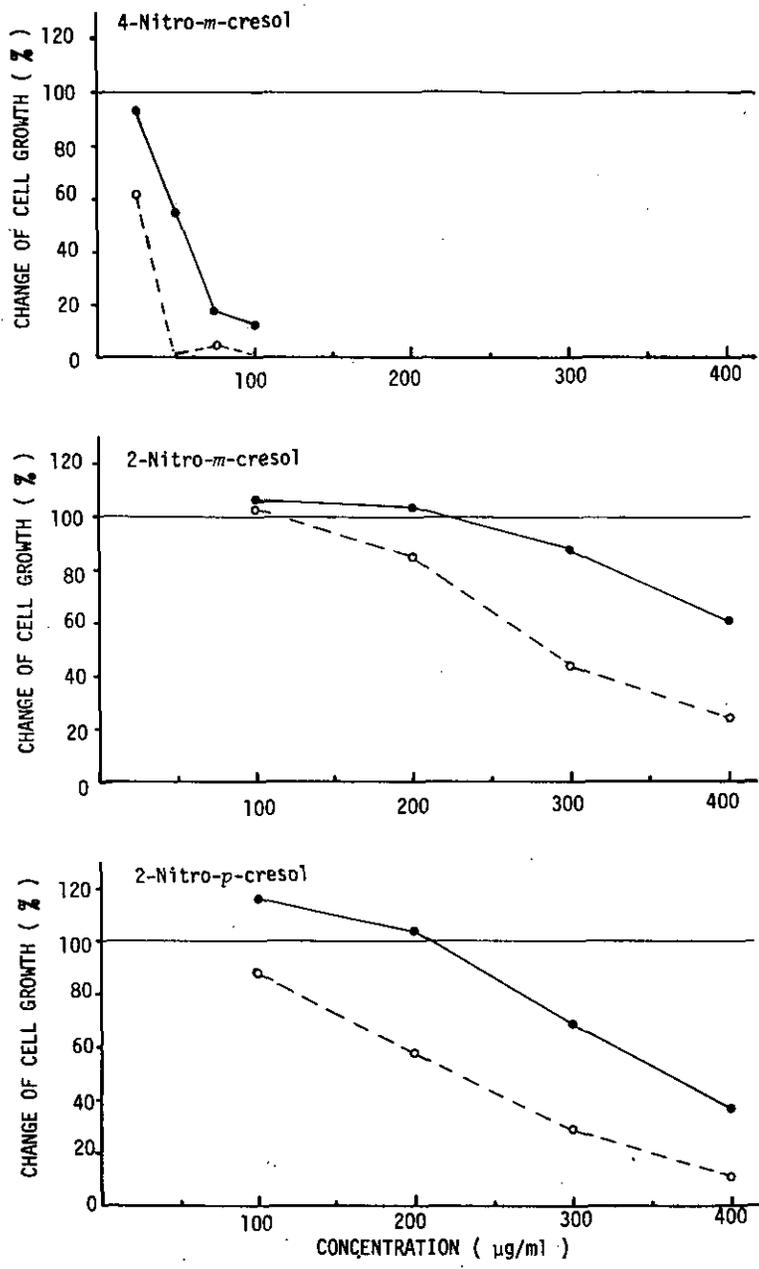


図6 ニトロクレゾールの処理2日目(●)および処理4日目(○)のHeLa細胞の増殖に及ぼす影響(表2-2より)

Fig 6 Effects of nitroresol on growth of HeLa cells. (from Table 2-2).
 ●; 2 days after treatment, ○; 4 days after treatment.

処理日数の増加につれ増殖抑制作用の強くなる傾向が認められた。

表 4 - 1 化合物の WI - 38 細胞の増殖に及ぼす影響
Table 4-1 Effects of compounds on growth of WI-38 cells.

Compound	2-Day after treatment		4-Day after treatment	
Concentration ($\mu\text{g/ml}$ of medium)	Cell number ^a (Mean \pm S.D.)	% Change of cell growth	Cell number (Mean \pm S.D.)	% Change of cell growth
<i>o</i> -Cresol	(Cell number at the time of treatment: 2.68 \pm 0.05)			
0	4.84 \pm 0.12	100	7.81 \pm 0.21	100
50	4.54 \pm 0.11	86	6.25 \pm 0.20	70
100	4.13 \pm 0.17	67	5.40 \pm 0.17	53
150	3.95 \pm 0.09	59	5.09 \pm 0.12	47
200	3.68 \pm 0.17	46	4.67 \pm 0.16	39
<i>m</i> -Cresol	(Cell number at the time of treatment: 4.19 \pm 0.07)			
0	6.30 \pm 0.36	100	8.10 \pm 0.32	100
200	6.30 \pm 0.29	100	7.37 \pm 0.24	80
300	5.42 \pm 0.22	58	6.25 \pm 0.50	53
400	4.81 \pm 0.12	29	6.02 \pm 0.28	47
500	4.22 \pm 0.21	1	4.62 \pm 0.21	11
<i>p</i> -Cresol	(Cell number at the time of treatment: 2.68 \pm 0.05)			
0	4.92 \pm 0.30	100	8.03 \pm 0.13	100
25	4.24 \pm 0.08	70	5.58 \pm 0.18	54
50	3.68 \pm 0.13	45	4.80 \pm 0.13	40
75	3.50 \pm 0.13	37	4.61 \pm 0.17	36
100	3.54 \pm 0.23	38	4.15 \pm 0.08	27
Benzaldehyde	(Cell number at the time of treatment: 1.51 \pm 0.13)			
0	3.41 \pm 0.17	100	5.29 \pm 0.30	100
50	3.30 \pm 0.08	94	4.66 \pm 0.20	83
100	2.89 \pm 0.17	73	4.33 \pm 0.29	75
150	2.48 \pm 0.13	51	2.89 \pm 0.24	37
200	2.40 \pm 0.16	47	2.70 \pm 0.23	31
<i>o</i> -Nitrotoluene	(Cell number at the time of treatment: 2.82 \pm 0.15)			
0	6.42 \pm 0.27	100	8.42 \pm 0.20	100
150	5.92 \pm 0.45	86	8.10 \pm 0.32	94
200	5.63 \pm 0.36	78	7.44 \pm 0.38	83
250	5.09 \pm 0.23	63	6.48 \pm 0.37	65
300	4.68 \pm 0.30	52	6.14 \pm 0.28	59
<i>m</i> -Nitrotoluene	(Cell number at the time of treatment: 2.65 \pm 0.07)			
0	5.05 \pm 0.16	100	6.55 \pm 0.18	100
150	4.38 \pm 0.20	72	5.90 \pm 0.06	83
200	4.20 \pm 0.08	65	5.50 \pm 0.08	73
250	3.98 \pm 0.06	55	5.06 \pm 0.11	62
300	3.61 \pm 0.07	40	4.69 \pm 0.10	52

^a Number of cells per 1 ml of medium counted by electric cell counter($\times 10^4$ cells/ml).

表4-2 化合物のWI-38細胞の増殖に及ぼす影響

Table 4-2 Effects of compounds on growth of WI-38 cells.

Compound Concentration ($\mu\text{g/ml}$ of medium)	2-Day after treatment		4-Day after treatment	
	Cell number ^a (Mean \pm S.D.)	% Change of cell growth	Cell number (Mean \pm S.D.)	% Change of cell growth
<i>p</i> -Nitrotoluene (Cell number at the time of treatment: 2.82 \pm 0.15)				
0	5.96 \pm 0.37	100	7.78 \pm 0.29	100
100	5.84 \pm 0.50	96	8.03 \pm 0.14	105
150	5.88 \pm 0.46	97	7.84 \pm 0.38	101
200	4.98 \pm 0.40	69	6.71 \pm 0.27	78
250	4.85 \pm 0.27	65	6.14 \pm 0.10	67
Benzyl nitrate (Cell number at the time of treatment: 2.82 \pm 0.15)				
0	4.86 \pm 0.45	100	6.43 \pm 0.07	100
50	4.40 \pm 0.18	77	5.72 \pm 0.26	80
100	3.90 \pm 0.25	53	5.02 \pm 0.22	61
150	3.70 \pm 0.33	43	4.70 \pm 0.08	52
200	3.31 \pm 0.39	24	3.85 \pm 0.18	29
4-Nitro- <i>m</i> -cresol (Cell number at the time of treatment: 2.15 \pm 0.12)				
0	5.15 \pm 0.13	100	7.96 \pm 0.39	100
25	5.05 \pm 0.15	97	6.88 \pm 0.21	81
50	3.73 \pm 0.12	53	4.03 \pm 0.20	32
75	3.20 \pm 0.08	35	2.58 \pm 0.25	7
100	3.16 \pm 0.12	34	2.30 \pm 0.17	3
2-Nitro- <i>m</i> -cresol (Cell number at the time of treatment: 2.65 \pm 0.07)				
0	5.05 \pm 0.16	100	6.55 \pm 0.18	100
100	5.17 \pm 0.08	105	6.67 \pm 0.10	103
200	5.06 \pm 0.16	100	5.96 \pm 0.10	85
300	4.86 \pm 0.08	92	5.20 \pm 0.12	65
400	4.31 \pm 0.08	69	4.21 \pm 0.08	40
2-Nitro- <i>p</i> -cresol (Cell number at the time of treatment: 2.65 \pm 0.07)				
0	5.05 \pm 0.16	100	6.55 \pm 0.18	100
100	5.22 \pm 0.19	107	6.38 \pm 0.16	96
200	5.08 \pm 0.13	101	5.45 \pm 0.10	72
300	4.43 \pm 0.10	74	4.58 \pm 0.10	49
400	3.80 \pm 0.13	48	4.02 \pm 0.80	35

^a Number of cells per 1 ml of medium counted by electric cell counter($\times 10^4$ cells/ml).

表5 化合物の WI - 38 細胞に対する50%増殖阻止濃度

Table 5 The fifty per cent growth inhibitory dose of compounds for WI-38 cells.

Compound	50 % Growth inhibitory dose ($\mu\text{g/ml}$ of medium)	
	2 Days after treatment	4 Days after treatment
<i>o</i> -Cresol	181 ($r=0.986^a$, $y=-0.26x+97^b$)	136 ($r=0.972$, $y=-0.20x+77$)
<i>m</i> -Cresol	341 ($r=0.995$, $y=-0.33x+161$)	339 ($r=0.968$, $y=-0.21x+122$)
<i>p</i> -Cresol	51 ($r=0.959$, $y=-0.66x+84$)	31 ($r=0.977$, $y=-0.34x+61$)
Benzaldehyde	175 ($r=0.968$, $y=-0.33x+107$)	142 ($r=0.952$, $y=-0.39x+105$)
<i>o</i> -Nitrotoluene	309 ($r=0.994$, $y=-0.23x+122$)	328 ($r=0.984$, $y=-0.25x+131$)
<i>m</i> -Nitrotoluene	264 ($r=0.986$, $y=-0.21x+106$)	308 ($r=0.999$, $y=-0.21x+114$)
<i>p</i> -Nitrotoluene	306 ($r=0.913$, $y=-0.24x+124$)	313 ($r=-^c$, $y=-0.22x+122$)
Benzyl nitrate	123 ($r=0.973$, $y=-0.34x+92$)	142 ($r=0.988$, $y=-0.32x+96$)
4-Nitro- <i>m</i> -cresol	68 ($r=0.906$, $y=-0.83x+107$)	44 ($r=0.932$, $y=-1.04x+96$)
2-Nitro- <i>m</i> -cresol	483 ($r=-^c$, $y=-0.23x+161$)	360 ($r=0.998$, $y=-0.22x+131$)
2-Nitro- <i>p</i> -cresol	392 ($r=-^c$, $y=-0.26x+152$)	316 ($r=0.993$, $y=-0.21x+115$)

^a Correlation coefficient in examined concentration.

^b Regression line.

^c Unable to calculate.

2) WI - 38 細胞の増殖に対する化合物の影響

異なった細胞種の間化合物に対する感受性の差を検討する目的で、HeLa細胞と同様な方法でWI-38細胞についても検索を行い、その結果を表4に示し、また増殖抑制作用の認められた化合物のID₅₀を表5に示す(トルエンは試験せず)。

各化合物は25 - 500 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で増殖抑制作用を示し、それら化合物の処理2日目のID₅₀は、*o*-クレゾール 181 $\mu\text{g/ml}$ 、*m*-クレゾール 341、*p*-クレゾール 51、ベンズアルデヒド 175、*o*-ニトロトルエン 309、*m*-ニトロトルエン 264、*p*-ニトロトルエン 306、硝酸ベンジル 123、4-ニトロ-*m*-クレゾール 68、2-ニトロ-*m*-クレゾール 483、2-ニトロ-*p*-クレゾール 392であった。HeLa細胞にて得られた値に比べ、*m*-クレゾール、ベンズアルデヒド、*p*-ニトロトルエン等、高い傾向を示す化合物も認められたが、化合物間の増殖抑制作用の強弱パターンは、HeLa細胞の場合とほぼ同様の傾向がみられ、増殖抑制作用を指標として化合物の毒性の検索を試みる本実験では、この2種類の細胞間に著明な感受性の差は認められ

なかった。

3) HeLa細胞の形態に及ぼす化合物の影響

化合物を含まない培養液で培養された HeLa細胞 (対照) は、大きさの均一な上皮性の細胞であり、培養後期に核の変性および細胞質の変性のみられる細胞がわずかに出現した (写真A)。化合物含有培養液で培養された HeLa細胞は全般にわたり細胞質の変性がみられ、*o*-クレゾール (200 - 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$)、*p*-クレゾール (50 - 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 処理では、多数の核の変性細胞と多核細胞の出現が認められた (写真B)。ベンズアルデヒド (100 - 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 処理では、軽度の細胞質変性がみられる程度であった。*m*-ニトロトルエン (200 - 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 処理では、細胞質の空洞化、核の変性および多核細胞がみられ、多核細胞は処理日数の増加につれ割合を増す傾向にあった (写真C)。硝酸ベンジルは、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 処理では細胞質の変性がみられるだけであるが、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 処理においては細胞質の変性とともにも多核細胞の出現が認められた (写真D, E)。4-ニトロ-*m*-クレゾール (50 - 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 処理では、処理2日目に細胞質の変性がみられ、核の変性は少なく、処理4日目に多数の核の変性がみられるようになった (写真F)。

考 察

大気中から検出され、二次汚染物質の反応物質と考えられるトルエンは、200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下では細胞毒性の指標とした細胞増殖抑制作用は認められず、逆に増殖促進作用が認められた。Carpenter¹²⁾ はトルエンのラットに対するガス暴露実験を行い、その LC_{50} (50% 致死濃度) は 8,000 ppm (4時間暴露) であったと報告している。このようにトルエン単体の毒性は、大気汚染物質として注目を集める NO_2 や O_3 の毒性に比べ極めて弱いことが、生体暴露実験でも示唆された。一方、トルエンと窒素酸化物の光酸化反応生成物は、25 - 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度域で対照群の細胞増殖に比べ増殖率の低下が認められ、特に *p*-クレゾール、ベンズアルデヒド、硝酸ベンジルおよび4-ニトロ-*m*-クレゾールでは、HeLa細胞において100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下で明らかな細胞増殖抑制作用が認められた。これらのことより、汚染大気中での光化学反応は、反応物質より毒性作用の強い二次生成物質を作り出すことが示唆される。

本実験で検討がなされた化合物は、それら化合物間あるいは異性体間に明らかな毒性の差が認められた。クレゾール、ベンズアルデヒド、ニトロトルエン等の毒性実験については、実験動物 (マウス、ラット等) への経口投与等で試みた報告¹³⁾ があり、致死量が得られている。しかし、それら実験で得られた化合物間あるいは異性体間の毒性発現パターンについては、本実験の結果と明らかな違いが認められた。毒性発現パターンの差については、大気汚染物質としての立場から考えると、一方は経口投与、他方は培養液に溶かし込むという現実にとぐわらない操作がなされていることが問題であり、差異を論ずる共通の基盤をもたないものと考えられる。さらには、もっと一般的に培養細胞と生体での毒性発現の差という根本的な問題に帰することでもあろう。ちなみに、梅田¹⁴⁾ は細

胞への毒性と生体への毒性の結果とが一致しない場合があることの理由として、生体では投与された薬剤の吸収・生体内分布・生体内変化・排泄などの関連が、その効果とは切っても切れない関係にあり、それらが複雑にからみあっているからであると説明している。

化合物の処理日数が細胞増殖率に及ぼす影響については、*o*-クレゾール、*p*-クレゾール、ベンズアルデヒドおよび*m*-ニトロトルエンでは、処理日数の増加につれ増殖抑制作用はむしろ低下し、一部増殖の回復あるいは増殖促進作用が認められた。しかし、*o*-ニトロトルエン、硝酸ベンジルおよびニトロクレゾールでは、逆に増殖抑制作用の持続ないし強化が認められた。処理日数の増加につれ、その増殖抑制作用の強さが変化する理由として、これら化合物の水あるいは培養液成分との反応や細胞内への取り込まれ方、細胞内での代謝等種々の要因が考えられ、今後の検討を待つ問題であろう。

ヒト胎児肺由来の正常二倍体細胞である WI-38 細胞を用い、HeLa 細胞との間に感受性の差があるか否かを検討した。化合物の処理 2 日目の ID_{50} を HeLa 細胞の結果と比較してみると、高い傾向を示す化合物 (*m*-クレゾール、ベンズアルデヒド、*p*-ニトロトルエン) も認められたが、化合物間あるいは異性体間の毒性発現パターンは、ほぼ同様であり、この 2 種類の細胞種間には著明な感受性の差が認められなかった。諏佐ら¹⁵⁾ は、クロム化合物はラット胎児細胞に対して、HeLa 細胞に対すると同程度の増殖抑制効果を示し、クロム化合物に対する感受性に著しい差は認められないと報告し、また Litterst ら¹⁶⁾ は、HeLa 細胞および human fibroblast 細胞に対する PCB、DDT 等の環境汚染物質の細胞毒性を検討したが、両細胞間に感受性の差のないことを報告している。これらのことから、増殖抑制作用を毒性の指標とする実験においては、培養細胞の種類による本質的な差がないならば、増殖性がよく、またすでに一般化している HeLa 細胞を使用する方が望ましいことが示唆された。

化合物によりもたらされる HeLa 細胞の形態的变化は、全般に細胞質の変性が認められ、特に *o*-クレゾール、*p*-クレゾール、*m*-ニトロトルエンおよび硝酸ベンジルにおいては、核の変性とともにも多核細胞の出現が認められた。梅田ら¹⁷⁾ および池田ら¹⁸⁾ は、FUDR、nitromine などの DNA 合成阻害剤が HeLa 細胞において、細胞の巨大化、多核細胞形成などの形態的变化を起こすことから、これらの細胞変化の発現と DNA 合成阻害とに関連があることを示唆している。各化合物の作用機序は未だ不明であるが、これらが多核細胞の出現をもたらしたことから、DNA 合成阻害過程と関連して影響を及ぼす可能性は否定できない。ある化合物によりもたらされた形態変化を、その作用機序が既知の薬剤がもたらす形態変化と比較検討することにより、その化合物の作用機序について、ある程度の示唆を得られる可能性を考慮すれば、今後とも形態学的検索は併用されて然るべきものと思われる。

環境汚染物質の培養細胞に対する影響検索については、既に数多くの報告がなされている^{4,5,10,15,16,19)}。しかし、大気汚染物質については、それらが気体であること、環境濃度が極めて低いこと、ほとんど

どが単一で存在しないこと等から、培養細胞を用いて現状に即した形で影響を検索することは容易なことではないと考えられる。

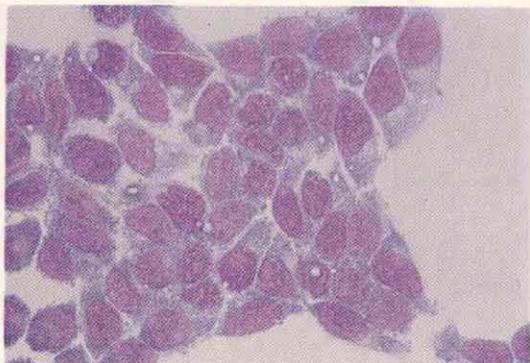
今後、より現実に近づけた条件での検索法の開発や、生化学的アプローチを始め、より多くの指標を用いてその影響機序の解明をはかる必要がある。

謝 辞

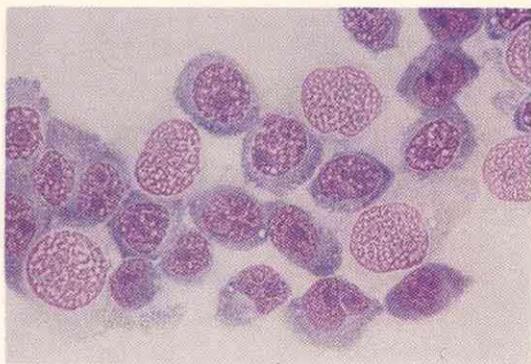
硝酸ベンジルを合成、分与して下さった当研究所 大気環境部 星野幹雄氏に深謝する。

引 用 文 献

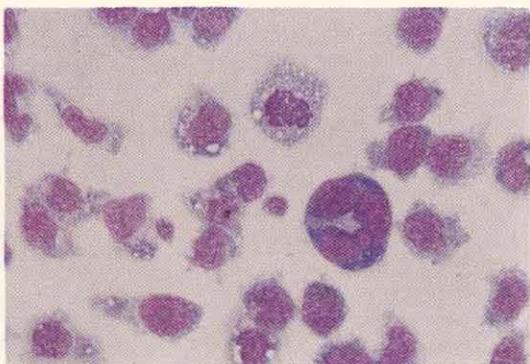
- 1) 花井義道・山下 暁・高橋敬子・加藤龍夫, 横浜国大環境科学センター紀要, 3, 27 (1977).
- 2) Hoshino, M., Akimoto, H., Okuda, M., Bull. Chem. Soc. Jpn., 51, 718 (1978).
- 3) Rounds, D.E., Bils, R.F., Arch. Environ. Health, 10, 251 (1965).
- 4) Fetner, R.H., Nature, 194, 793 (1962).
- 5) 磯村公郎・深瀬 治・渡辺 弘, 大気汚染研究, 11, 1 (1976).
- 6) Asquith, J.C. Watts, M.E., Patel, K., Smithen, C.E., Adams, G.E., Radiat. Res., 60, 108 (1974).
- 7) Raleigh, J.A., Chapman, J.D., Borsa, J., Kremers, W., Reuvers, A.P., Int. J. Radiat. Biol., 23, 377 (1973).
- 8) Adams, G.E., Clarke, E.D., Jacobs, R.S., Stratford, I.J., Wallace, R.G., Wardman, K.P., Watts, M.E., Biochem. Biophys. Res. Commun., 72, 824 (1976).
- 9) Biaglow, J.E., Radiat. Res., 65, 529 (1976).
- 10) Huberman, E., Selkirk, J.K., Heidelberger, C., Cancer Res., 31, 2161 (1971).
- 11) 黒田行昭, "動物組織培養法", 共立出版株式会社, 東京, p. 246 (1974).
- 12) Carpenter, C.P., Kinkead, E.R., Geary, D.L., Jr., Sullivan, L.J., King, J.M., Toxicol. Appl. Pharmacol., 36, 473 (1976).
- 13) 後藤 綱・池田正之・原 一郎編, "産業中毒便覧", 医歯薬出版株式会社, 東京 (1977).
- 14) 梅田 誠, 医学のあゆみ, 89, 767 (1974)
- 15) 諏佐信行・古川義宣・椿 精一, 日本獣医学雑誌, 39, 325 (1977).
- 16) Litterst, C.L., Lichtenstein, E.P., Arch. Environ. Health, 22, 454 (1974).
- 17) 梅田 誠・川崎一也・斎藤 守, 日本臨牀, 30, 942 (1972).
- 18) 池田 作・筒井健機・大森 庸・梅田 誠, 歯界展望, 43, 1143 (1974).
- 19) 梅田 誠・斎藤 守・乾 直道・山田正篤・大野久子, 医学のあゆみ, 90, 393 (1974).



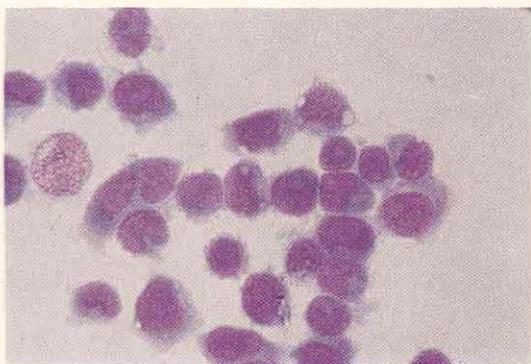
A Control
(4 days after treatment)



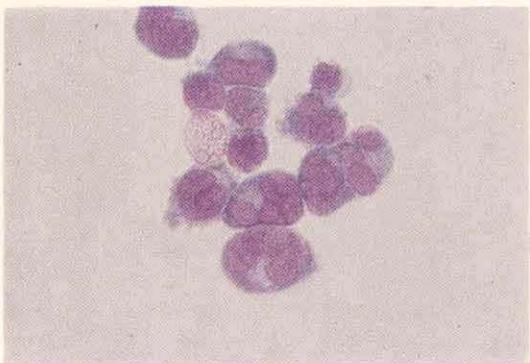
B *p*-Cresol 50 μg/ml
(2 days after treatment)



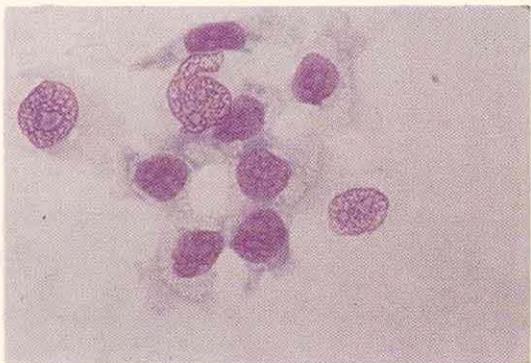
C *m*-Nitrotoluene 200 μg/ml
(4 days after treatment)



D Benzyl nitrate 50 μg/ml
(2 days after treatment)



E Benzyl nitrate 100 μg/ml
(2 days after treatment)



F 4-Nitro-*m*-cresol 100 μg/ml
(4 days after treatment)

写真 化合物の HeLa 細胞の形態に及ぼす影響
(May-Grünwald-Giemsa 染色, 倍率はすべて 400 倍)

Plate May-Grünwald-Giemsa-stained micrograph of HeLa cells incubated
with compound-containing medium. (magnification ×400).

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。(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)

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)

RESEARCH REPORT FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

No. 5

国立公害研究所研究報告第5号
(R-5-78)

昭和53年10月31日発行

編集・発行 国立公害研究所
茨城県筑波郡谷田部町大字館野

印刷 株式会社 イセブ印刷
茨城県筑波郡筑波町北条31

Published by the National Institute for Environmental Studies

Tsukuba, Yatabe, Ibaraki 300-21, Japan.

October 1978