

(様式第5号)

## サイクロン採取粒子の XANES による詳細化学状態解析と 細胞曝露応答評価

Detailed chemical speciation of cyclone-collected ambient particulate matter by  
XANES analysis and evaluation of cellular response by exposure experiment

奥田知明・齋藤克知・岩田歩・坂出壮伸

Tomoaki OKUDA, Katsutomo SAITO, Ayumi IWATA, Masanobu SAKAIDE

慶應義塾大学理工学部応用化学科

Department of Applied Chemistry, Faculty of Science and Technology,  
Keio University

- ※1 先端創生利用（長期タイプ）課題は、実施課題名の末尾に期を表す（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）を追記してください。
- ※2 利用情報の公開が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後2年以内に研究成果公開〔論文（査読付）の発表又は研究センターの研究成果公報で公表〕が必要です（トライアル利用を除く）。
- ※3 実験に参加された機関を全てご記載ください。
- ※4 共著者には実験参加者をご記載ください（各実験参加機関より1人以上）。

### 1. 概要（注：結論を含めて下さい）

標準物質および大気粒子物質（エアロゾル粒子）中クロムの XANES スペクトルを取得した。複数の標準物質を混合した試料の分析を行った結果、6 価クロムの含有割合の数%の違いが判別可能なスペクトルが得られた。エアロゾル採取時期、地点および粒径が異なる複数の試料を分析した結果、地点や粒径の違いによりスペクトルの形は変化した。今後エアロゾル粒子の細胞曝露実験の結果と照合し、粒子中元素の化学状態と粒子の有害性の解明に本法が役立つことが期待される。

#### (English)

Cr-XANES spectra in standard and atmospheric particulate matter (aerosol particles) were obtained. As a result of analyzing mixture samples of multiple standards, spectra were obtained which is possible to distinguish the difference of several percent of Cr(VI). As a result of analyzing several aerosol particle samples, characteristic spectra were obtained according to the difference in sampling season, sampling site and particle size. It is expected that this method would be useful in elucidation of chemical state and toxicity of particles by collating with the results of cell exposure experiment of aerosol particles.

### 2. 背景と目的

大気中の粒子状物質は人体に有害であり、健康影響が懸念されている。2009年に定められた我が国のPM<sub>2.5</sub>（粒径2.5 μm以下の粒子状物質）の環境基準は質量濃度のみが対象であるが、実際の有害性は粒子の物理化学特性に起因すると考えられるため、PM<sub>2.5</sub>濃度に加えてその化学成分・形態を解明することは喫緊の課題である。申請者は、2016年度より環境省／環境再生保全機構のプロジェクト「新規採取法及び細胞・動物曝露実験によるPM<sub>2.5</sub>の健康影響決定要因の同定」の研究代表者として、これまでに独自に製作したサイクロン式採取装置で大気粒子状物質を採取し、化学成分分析を行うと同時に曝露実験により大気粒子状物質の細胞応答性を評価してきた。そして、日本国内3地

点（神奈川県・埼玉県・福岡）・2 粒径（微小・粗大）・4 季節（2017 年・春夏秋冬）の系統的な試料分析を行い、粒子状物質の化学組成と細胞曝露応答との関連性を調査している。ここで大気粒子中に含まれる元素は、その化学形態により有害性が異なることが知られており、粒子の有害性を評価する上で、元素の化学形態を明らかにすることは重要である。これまで大気粒子中有害金属の化学形態別分析は逐次分解抽出法が広く用いられてきたが、この方法は湿式分解であり、試料を溶液化するため対象成分濃度の希釈による検出感度の低下が避けられず、また煩雑であるため分析可能な試料数も限られてしまっているのが現状である。そこで本研究では、高感度かつ非破壊分析法である放射光 XAFS を用いて粒子中元素の化学形態解析を行い、粒子の化学組成および細胞曝露応答との関連性を探索することを目的とした。

### 3. 実験内容（試料、実験方法、解析方法の説明）

インパクターおよびハイボリュームエアサンプラーを用いて、微小粒子状物質を石英繊維フィルター上に捕集した。流量は 740 L/min とした。これに加えて本研究では、横浜・埼玉・福岡においてバーチャルインパクターとサイクロンを組み合わせた微小粒子と粗大粒子の大流量同時採取装置<sup>[1-4]</sup>を稼働させ、大気粒子の採取を行った。流量は 1,200 L/min とし、3~4 週間の稼働で約 100~200 mg 程度の粒子状物質を得た。この大気粒子試料約 20 mg とセルロースパウダー 300 mg を 50 kN プレスにかけ層状にペレット成型し、蛍光 X 線分析による元素成分分析を行った。このフィルターおよびペレット試料を SAGA-LS BL11 に持ち込み、放射光 XAFS の実験を行った。また、クロムの標準物質として、Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 粉末、Na<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> 粉末、および Cr 箔を用いた。さらに大気粒子の標準物質として、国立環境研究所より頒布されている都市大気粉塵（CRM#28、Cr 含有量 56.5 ppm）を用いた。

Cr K 吸収端近傍 5,659~6,538 eV のエネルギー領域において、Cr 箔は透過法（I<sub>0</sub>, He 70% : N<sub>2</sub> 30%; I<sub>1</sub>, N<sub>2</sub> 100%）により、またその他の試料は 7 素子 SSD を用いた蛍光収量法により、それぞれ XAFS 測定を行った。測定パラメータは、クロム標準物質の測定においては 5,959~6,050 eV の XANES 領域のみ 0.37 eV/step（積算 1s/step）とし、残りの領域は 1.91~6.00 eV/step（1s/step）とした（合計 12 分）。エアロゾル標準物質 CRM#28 の測定においては前述の 12 分の測定パラメータと、さらに XANES 領域を 0.37 eV/step（10 s/step）、6,050~6,126 eV の領域を 1.91 eV/step（2 s/step）とし、残りの領域は 2.67~6.00 eV/step（1 s/step）とした合計 50 分となる測定パラメータを用いた。試料形状はクロムの標準物質は、XAFS 試料調製ガイドプログラムを用いてペレット作製に必要な標準物質および窒化ホウ素量を算出し、乳棒と乳鉢を用いて標準物質と窒化ホウ素とを 20 分ほど混合し、その粉体を 50 kN でプレスし 13 mm φ に成型したペレット試料とした。エアロゾル標準物質はセルロース粉末 300 mg の上に CRM#28 粉末を 20 mg 載せて 50 kN でプレスし 13 mm φ に成型したペレット試料とした。

### 4. 実験結果と考察

クロムの標準物質である 3 価の酸化クロムと 6 価のクロム酸ナトリウム四水和物 2 種を混合した試料のスペクトル測定を行った。6 価クロムの割合が 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 0% と異なる混合試料を複数作製し、それぞれについてスペクトルの測定を行った。測定は透過法にて行われ、測定時間は上述の通りで 1 個の試料につき 12 分で行われた。また、いずれの試料も上述の通り、窒化ホウ素と混合して 13 mm φ のペレット試料とした。その結果を図 1 に示す。これより、約 5990 eV に現れる鋭いプレッジピークの高さは 6 価クロムのモル分率に依存して変化することが分かった。また、6 価クロムの割合が 5% および 2.5% と、非常にその割合の差が小さい混合試料のスペクトルを図 2 に示す。これより、6 価クロムの割合が大気中に実際に含まれているような小さい値でも XANES スペクトル上にピークの高さの違いとして十分現れるということが分かった。

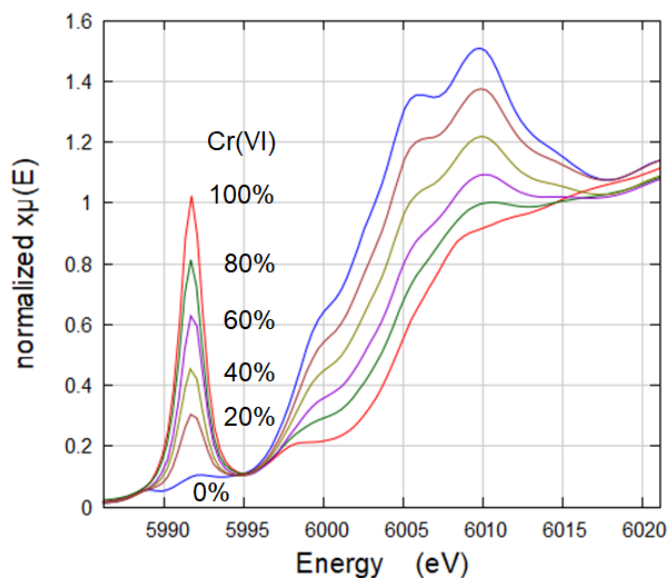


図 1.  $\text{Na}_2\text{CrO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  と  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  の混合試料の割合を 20% ずつ変化させたときの Cr K XANES スペクトルの変化

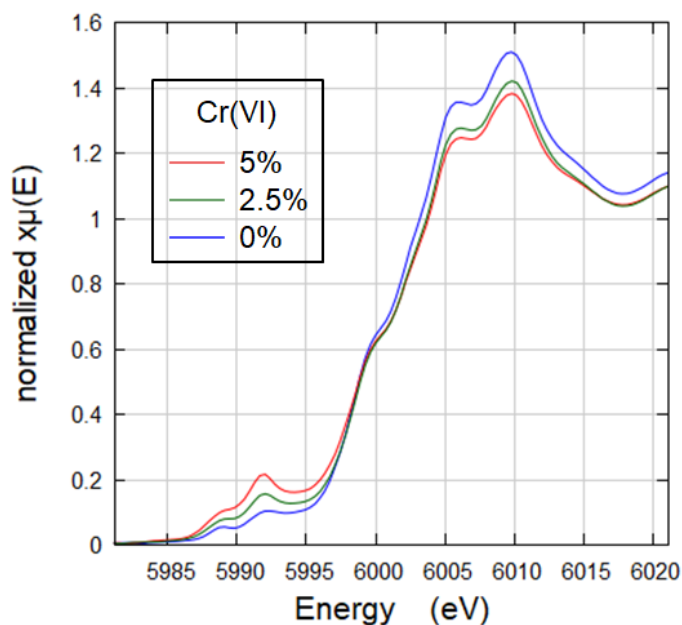


図 2.  $\text{Na}_2\text{CrO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  の含有割合の差が僅かであるときの Cr K XANES スペクトルのピーク高さの変化

次に、神奈川・埼玉・福岡において採取されたエアロゾル粉体（微小粒子・粗大粒子）の XANES スペクトルの一例として、神奈川においてサイクロンにより採取された微小側および粗大側の大気粒子試料の Cr K XANES スペクトルを図 3 に示す。これより、両者は明確に異なっており、試料中に含まれるクロムの化学形態が異なっていることが示唆された。また、粗大粒子のスペクトルの 5,990 eV 付近に立ちあがりが見られることから、6 価クロムの存在可能性が示された。

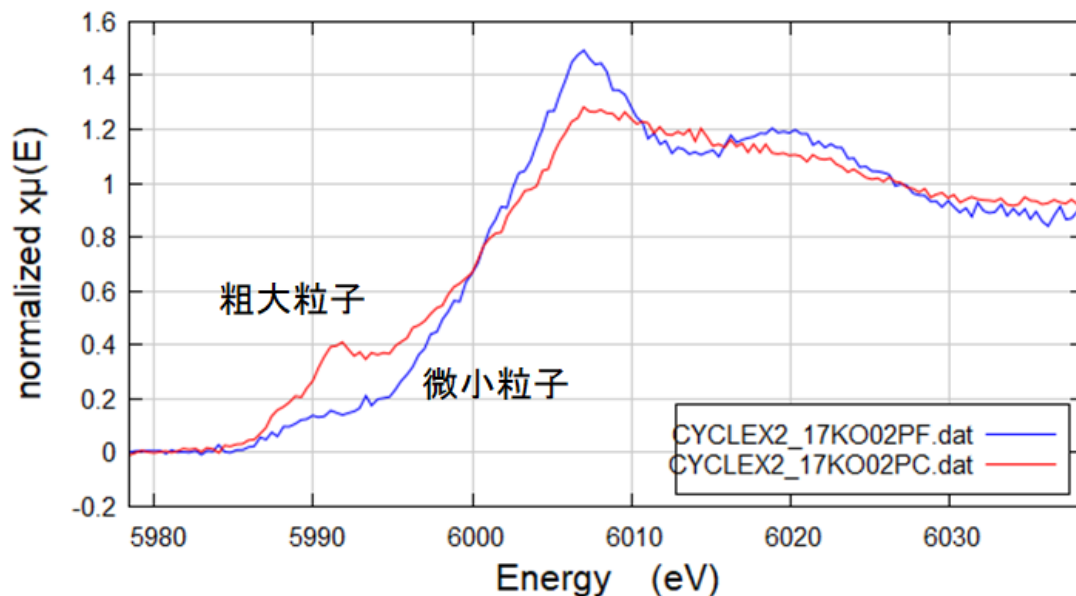


図 3. 神奈川においてサイクロンにより採取された微小側および粗大側の大気粒子試料の Cr K XANES スペクトル。青：微小粒子、赤：粗大粒子。

## 5. 今後の課題

今後は、6 価クロム含有量の割合が微小である試料の XANES スペクトルの測定や、Cr の価数別含有量の線形合成解析による算出、さらには Cr 以外の元素の XAFS スペクトルの解析などを行う。これに加え、現在進行中の、粒子を細胞に曝露する実験結果を合わせて解析を行う予定である。

## 6. 参考文献

- [1] T. Okuda, R. Isobe, Y. Nagai, S. Okahisa, K. Funato, K. Inoue, “Development of a high-volume PM2.5 particle sampler using impactor and cyclone techniques”, *Aerosol Air Qual. Res.*, 15, 759-767 (2015).
- [2] K. Ogino, K. Nagaoka, T. Okuda, A. Oka, M. Kubo, E. Eguchi, Y. Fujikura, “PM2.5 induced airway inflammation and hyperresponsiveness in NC/Nga mice”, *Environ. Toxicol.*, 32, 1047-1054 (2017).
- [3] T. Okuda, R. Isobe, “Improvement of a high-volume aerosol particle sampler for collecting submicron particles through the combined use of a cyclone with a smoothed inner wall and a circular cone attachment”, *Asian J. Atmos. Environ.*, 11, 131-137 (2017).
- [4] T. Okuda, D. Shishido, Y. Terui, K. Fujioka, R. Isobe, Y. Iwaki, K. Funato, K. Inoue, “Development of a high-volume simultaneous sampler for fine and coarse particles using virtual impactor and cyclone techniques”, *Asian J. Atmos. Environ.*, 12, 78-86 (2018).

## 7. 論文発表・特許 (注：本課題に関連するこれまでの代表的な成果)

なし

## 8. キーワード (注：試料及び実験方法を特定する用語を 2～3)

エアロゾル、XANES、六価クロム

9. 研究成果公開について (注：※2に記載した研究成果の公開について①と②のうち該当しない方を消してください。また、論文(査読付)発表と研究センターへの報告、または研究成果公報への原稿提出時期を記入してください(2018年度実施課題は2020年度末が期限となります)。

長期タイプ課題は、ご利用の最終期の利用報告書にご記入ください。

① 論文(査読付)発表の報告

(報告時期： 2021年 3月)