

Environment Research and Technology Development Fund

環境省環境研究総合推進費終了研究等成果報告書

安定同位体比を用いた二次生成粒子形成メカニズムの解明
(5RF-1401)

平成26年度～平成28年度

Reaction Mechanism and Source Apportionment of Secondary Aerosol

秋田県立大学

平成29年5月

環境省

総合環境政策局総務課環境研究技術室
環境保健部環境安全課環境リスク評価室
地球環境局総務課研究調査室

安定同位体比を用いた二次生成粒子形成メカニズムの解明

(5RF-1401)

I. 成果の概要	・・・・・・・・・・	i
1. はじめに（研究背景等）		
2. 研究開発目的		
3. 研究開発の方法		
4. 結果及び考察		
5. 本研究により得られた主な成果		
6. 研究成果の主な発表状況		
7. 研究者略歴		
II. 成果の詳細		
(1) 安定同位体比を用いた二次生成粒子形成メカニズムの解明	・・・・・・・・・・	1
(秋田県立大学)		
要旨	・・・・・・・・・・	1
1. はじめに	・・・・・・・・・・	2
2. 研究開発目的	・・・・・・・・・・	4
3. 研究開発方法	・・・・・・・・・・	4
4. 結果及び考察	・・・・・・・・・・	30
5. 本研究により得られた成果	・・・・・・・・・・	43
6. 国際共同研究等の状況	・・・・・・・・・・	44
7. 研究成果の発表状況	・・・・・・・・・・	44
8. 引用文献	・・・・・・・・・・	45
III. 英文Abstract	・・・・・・・・・・	49

課題名 5RF-1401 安定同位体比を用いた二次生成粒子形成メカニズムの解明
 課題代表者名 川島 洋人 (秋田県立大学 准教授)
 研究実施期間 平成26～28年度
 累計予算額 34,298千円 (うち平成28年度: 9,267千円)
 予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード 粒子状物質、窒素安定同位体比、粒子化、発生源解析、混合モデル、ガス状成分、アンモニア、窒素酸化物

研究体制

(1) 安定同位体比を用いた二次生成粒子形成メカニズムの解明 (秋田県立大学)

研究概要

1. はじめに (研究背景等)

粒子状物質による健康被害が問題となっているが、未だ原因や発生源の特定に至っていない。春季において中国内陸部などで発生した黄砂が偏西風に乗り日本に越境していることが証明されつつあるが、日本海沿岸地域において冬季にも粒子状物質が越境していることも懸念され始めている。近年、硫黄、炭素、窒素等の軽元素の安定同位体比が、粒子状物質の動態解析において注目され始めている。安定同位体比は、複雑に絡み合った粒子状物質の発生源の解明にはまたとない指標となり得る。炭素安定同位体比を利用した粒子状物質の起源推定の研究をはじめ、硫黄安定同位体比、酸素安定同位体比および窒素安定同位体比を利用した粒子状物質の起源推定の研究が数多く行われている。

さらに最近になって、硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ を測定するために、脱窒菌を使った方法 (以下、脱窒菌法) が開発された。この方法は、脱窒菌という菌を用いて、極微量量の硝酸イオンを亜酸化窒素へ変換し、窒素や酸素の安定同位体比を分析する方法である。地球科学の分野で応用が始まり、環境試料の微量な硝酸イオンの安定同位体分析に利用されている。さらに土壌、地下水、降雨、大気粒子などの様々な試料の測定に応用されつつある。この方法の特徴は、菌の維持管理という手間がかかるものの以下の利点が挙げられる。(1) 高感度、高精度であるために必要なサンプル量が極めて少ない (300 ng-N)、(2) 試料の処理工程が短時間であり、簡易である、(3) 窒素安定同位体比と酸素安定同位体比を同時に分析が可能である、等の利点を有している。さらに、アンモニウムイオンを還元することで硝酸イオンにして、それらを脱窒菌法にて $\delta^{15}\text{N}$ を分析する方法も開発されつつあり、高い時間分解能での粒子状物質中のアンモニウムイオンと硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ の測定が実施されようとしている。

また、混合モデルに安定同位体比を導入した同位体混合モデルという統計的な解析手法が開発された。消費者と餌の安定同位体比から、消費者が消費した各餌種の寄与率を計算することができる方法であり、生態学分野では活発に応用され始めている。現在では、複数のモデルが開発されており、一般的に知られているモデルとしては、Iso SourceやSIAR (Stable Isotope Analysis in R, SIAR)、MixSIRなどが挙げられ、このほかにもさまざまなモデルが開発されている。さらに最近では、生態学の分野だけではなく、環境汚染物質の分野にも同位体混合モデルの応用が始まっている。

2. 研究開発目的

本研究では、脱窒菌法を使った安定同位体比を用いた粒子状物質中の二次性粒子の形成メカニズムの解明、発生源解析を目指す。先行研究としては、研究代表者によって、国際学術雑誌であるAtmospheric Environment誌に『窒素安定同位体比を用いたアンモニウムイオン、硝酸イオンの環境動態解析』と『炭素安定同位体比を用いた冬季の越境汚染について』という内容で2報、それぞれ2011年、2012年に報告した。これらの研究では、春の黄砂だけでなく、冬にも粒子状物質が越境汚染している可能性があることをいち早く示すことが出来た。しかし、二次生成粒子のメカニズムに関しては、未だに不明点も多く、また定量的に発生源解析が出来ておらず、さらに進める必要がある。特に、ガスから粒子へ反応する際の同位体分別係数は、起源推定する際には非常に重要な情報であるにも関わらず、実際に実験をして算出した報告は皆無である。

具体的には、(1) 脱窒菌法を用いた二次生成粒子のアンモニウムイオン、硝酸イオン、その前駆物質であるアンモニアガス、硝酸ガスの窒素安定同位体比の高精度分析法を確立すること、(2) ガスから粒子への同位体分別係数を算出すること、(3) 最終的には、二次生成粒子がどの発生源の影響を受けているのか同位体混合モデルを用いて定量的に推定することを目指した。

3. 研究開発の方法

脱窒菌法を用いた硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 、アンモニウムイオンの $\delta^{15}\text{N}$ の高精度分析方法の確立を目指した。脱窒菌法の分析に関して、本研究開始時には全く行われていなかったため、脱窒菌の管理維持、装置のセットアップ等も行った。また、脱窒菌法の開発者の一人であるスタンフォード大学のK. Casciotti准教授のところに短期留学して、細かいテクニックやデータ管理方法などを習得し、さらに高精度分析方法の確立を目指した。また、硝酸が入った6種の試薬をスタンフォード大学で分析を行い、秋田県立大学との比較・検証を行った。アンモニウム中の $\delta^{15}\text{N}$ の高精度分析法の確立のために、アンモニアが入った7種の試薬を用いて検証を行った。また、ガス状成分（アンモニアガス、硝酸ガス）の $\delta^{15}\text{N}$ の分析法の検討を行った。その後、ガスから粒子化のために核凝縮型単分散粒子発生機を用いて、硝酸ガスから硝酸イオンへの、またアンモニアガスからアンモニウムイオンへのガスから粒子化の際の窒素安定同位体比の分別係数推定実験を行った。さらに、パッシブサンプラーを用いて屋外のアンモニアガスの $\delta^{15}\text{N}$ 、二酸化窒素の $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ の分析を行った。また、ハイボリウムサンプラーで採取した粒子中の硝酸イオンの発生源寄与率について、同位体混合モデルを用いて算出した。

(1) 脱窒菌法による分析とアンモニアの反応実験

1) 脱窒菌法による分析方法の検討と試薬を用いた検証

脱窒菌によって液体中に含まれる硝酸イオンを亜酸化窒素まで還元し、亜酸化窒素として $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ を分析する脱窒菌法の確立を目指した。分析手順は、2002年に確立されたスタンフォード大学のK.Casciotti准教授らが開発した手順に従った。脱窒菌は米国ATCC社製の(ATCC13985、*Pseudomonas aureofaciens*)という亜酸化窒素還元酵素を持たない脱窒菌株を用いた。滅菌済みの爪楊枝を用いて、グリセロールストックから寒天培地に菌を植え継ぎ、温度が25℃と一定であるクールインベキュータ内にて培養した。1週間後、寒天培地から滅菌済みの液体培地が入った試験管に植え継ぎ、培養した。24時間後、試験管から滅菌済みの液体培地が入った500 mLのバイアル瓶に1 mLずつ菌を植え継ぎ、培養させた。その後、1週間ほど培養させた菌を用いた。また1週間経過した後、菌をまた新たなプレートに植え継いで合計5週目まで菌の植え継ぎを繰り返し、菌を管理した。図1に菌の管理の全体の流れを示した。分析システムとしては、オートサンプラーとしてPAL (CTCアナリティカル社製)、濃縮等としてGasBench II、Denitrification Kit (サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)、安定同位体比分析としてDeltaXP (サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)を用いた(図2)。本研究では新たなニードルを作成し、ニードル交換に関するコストは百分の一程度まで下げることが出来るようになった。検証実験としては、スタンフォード大学と秋田県立大学にて6種の硝酸試薬を脱窒菌法によって、それぞれ測定を行った。

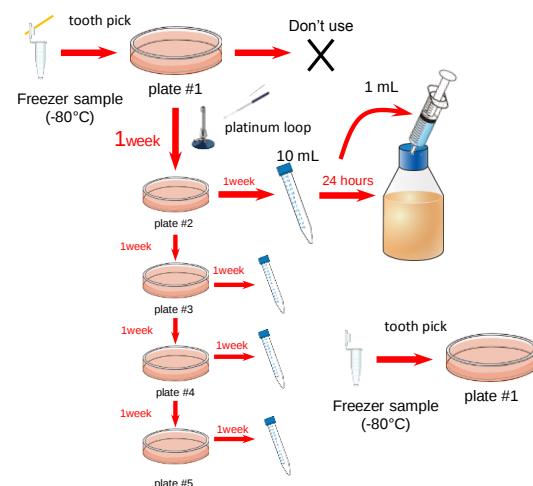


図1 菌の管理の全体の流れ



図2 脱窒菌法システム (左), 安定同位体比質量分析計 (右)

2) アンモニウムイオンから亜硝酸への反応実験

脱窒菌法ではアンモニウムイオンは分析することができないため、まずアンモニウムイオンを亜硝酸イオン（もしくは硝酸イオン）に酸化させる必要がある。本研究では、臭素酸イオン/臭化イオンを含んだ溶液を用いることで、アンモニウムイオンから亜硝酸イオンに酸化させた。まず、酸化させるための臭素酸元液を作成した。一連の流れは図3に示した。検証実験としては、7種のアンモニウムイオンを含む溶液に臭素酸溶液を用いて、亜硝酸イオンに変化させて脱窒菌法によって測定を行った。

(2) ガスから粒子への反応の際の粒子化分別係数

1) アンモニアガスの温度変化における粒子化分別係数

様々な温度の条件下でアンモニアガスが粒子化した際の同位体の分別係数（粒子化分別係数）を求めた。アンモニアガスとして、アンモニア水の気化したアンモニアガスを用いた。気化の手順は、テドラーバッグ（5 L）に窒素ガス（G3グレード、大陽日酸社製）を注入し、そこへシリンジを用いてアンモニア水（3.5 %、特級試薬、和光純薬工業社製）0.5 mLを注入した。その後、70 °Cに設定したオーブンで1 時間程度放置し、気化させた。核粒子は、塩化ナトリウム（0.8 g/L）と核凝縮型単分散粒子発生機（MAG 3000、PALAS社製）を用いて生成した。その後、気化後のアンモニアガスは、粒子が封入されたテドラーバッグへ注入した（図4）。

粒子化反応は、テドラーバッグ内をよく攪拌した後、-5 °C、5 °C、25 °C、35 °Cで3 時間反応させた。捕集は、先頭に石英繊維フィルター（2500QAT-UP 直径47 mm、Pall社製）をインパクター（NWPS-35H型、柴田科学社製）に設置したものを取り付けて、リン酸5 %を塗布したフィルターを3 段のフィルターホルダー（ニールフィルターホルダー、東京ダイレック社製）に設置したものを接続し、ミニポンプ（MP-Σ300N、柴田科学社製）を用いて3 L/minの流速で吸引した。その後、フィルターを抽出し、紫外可視分光光度計を用いて濃度を測定し、バイアルへの添加量を決めた。前述したように、脱窒菌法ではアンモニウムイオンは分析することができないため、まずアンモニウムイオンを亜硝酸イオン（もしくは硝酸イオン）に酸化させて、Gas BenchII/IRMSで同位体比を測定した。

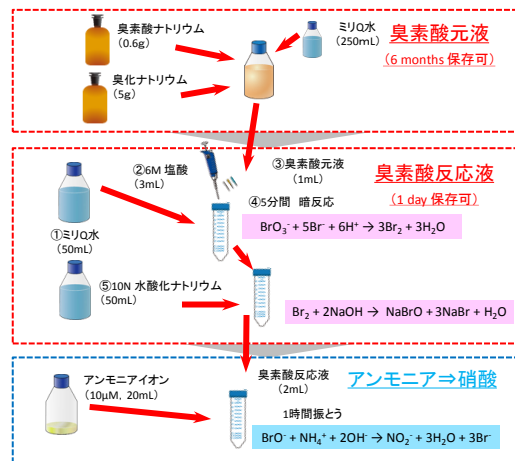


図3 アンモニウムイオンの変換図

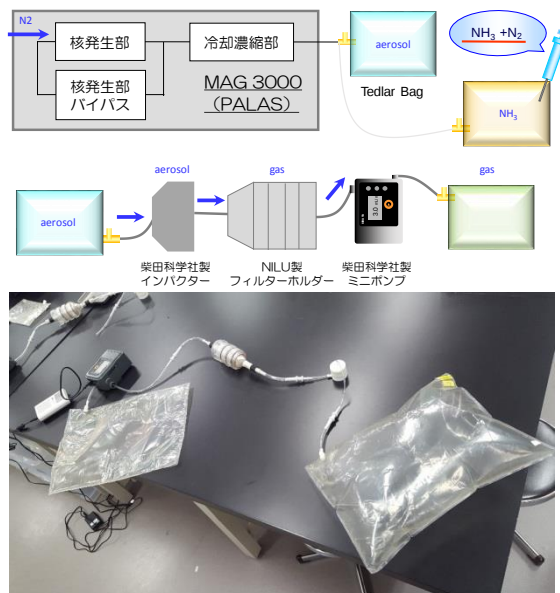


図4 粒子化実験の概要（上），様子（下）

2) 硝酸ガスの温度変化における粒子化分別係数

様々な温度の条件下で硝酸ガスが粒子化した際の同位体の分別係数（粒子化分別係数）を求めた。硝酸ガスとして、硝酸を気化した硝酸ガスを用いた。気化の手順は、テドラーバッグ（5 L）に窒素ガス（G3グレード、大陽日酸社製）を注入し、そこへシリンジを用いて硝酸（5.5 %、特級試薬、和光純薬工業社製）0.5 mLを注入した。その後、70 °Cに設定したオーブンで1 時間程度放置し、気化させた。核粒子として塩化ナトリウム（300 g/L）として、核凝縮型単分散粒子発生機（MAG 3000、PALAS社製）を用いて生成した。その後、気化後の硝酸ガスが、粒子が封入されたテドラーバッグへと注入した。粒子化反応は、テドラーバッグ内をよく攪拌した後、-5 °C、5 °C、25 °C、35 °Cで3 時間反応させた。捕集は、先頭に石英繊維フィルター（2500QAT-UP 直径47 mm、Pall社製）をインパクター（NWPS-35H型、柴田科学社製）に設置したものを取り付けて、炭酸カリウム6 %（特級試薬、関東化学社製）+ グリセリン2 %（特級試薬、和光純薬工業社製）溶液を塗布したフィルターを3 段のフィルターホルダー（ニールフィルターホルダー、東京ダイレック社製）に設置したものを接続し、ミニポンプ（MP-Σ300N、柴田科学社製）を用いて3 L/minの流速で吸引した。その後、フィルターを抽出し、紫外可視分光光度計を用いて濃度を測定し、バイアルへの添加量を決めて、Gas BenchII/IRMSで同位体比を測定した。

(3) パッシブサンプラーにおけるサンプリング

ガス状成分として、二酸化窒素、アンモニアガスのサンプリングを短期暴露用拡散型のパッシブサンプラー（小川照会社製）を用いて行った。フィルターは、二酸化窒素、アンモニアガスは、それぞれ、トリエタノールアミン、クエン酸の含浸ろ紙であった。パッシブサンプラーの原理としては、サンプラーに目的の汚染物質を捕集するフィルターを装着すれば、大気側が高濃度、フィルター面が低濃度となり、その間でFickの第一法則に従う分子拡散が行われ、汚染物質はフィルターに捕集されていく構造である。

サンプリング地点としては、秋田県由利本荘市にある秋田県立大学大学院棟駐車場、学部棟駐輪場の2地点で行った。サンプリング地点の特徴を挙げれば以下の通りである。また、期間は2016年2月15日から2017年2月13日で実施した。実験手順は2週間ほど捕集したフィルターを4枚集め、40 mLミリQ水に溶かして、超音波にかけて30分間抽出を行った。抽出を行った後に試薬を加えて反応させ、紫外可視分光光度計を用いて二酸化窒素は硝酸態窒素として波長507 nmの条件で、アンモニアは655 nmの条件で分析を行った。さらに濃度の結果から、脱窒菌法で測定するために必要なサンプル量を導出し、サンプル瓶に入れて脱窒を行った。アンモニアサンプルのみ、吸光度計の測定後にアンモニウムイオンから亜硝酸イオンに変えて分析を行った。

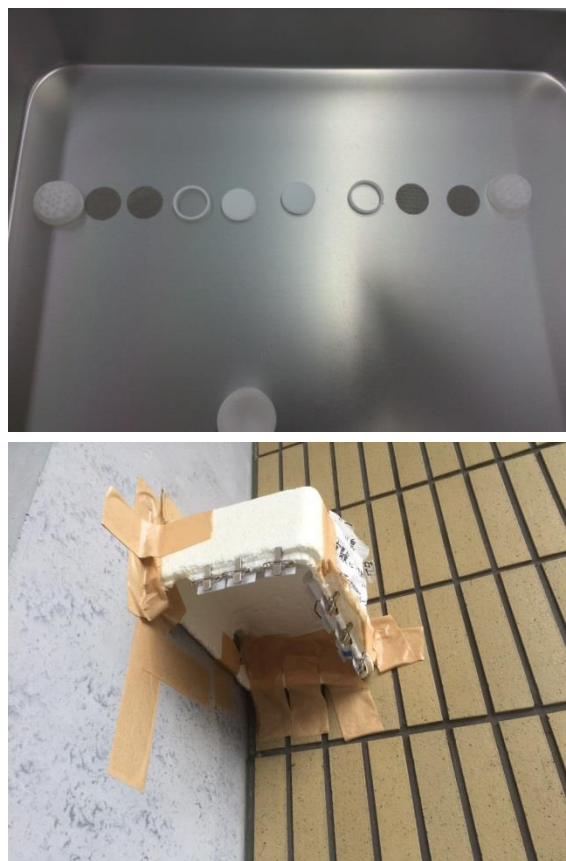


図5 小川サンプラーの分解（上）
サンプリング風景（下）

(4) 混合モデルを用いた発生源解析

近年、混合モデルに安定同位体比を導入した同位体混合モデルという統計的な解析手法が開発された。これにより、同位体を使った発生源寄与率推定が可能となった。本研究では、安定同位体比や係数の値のばらつきを考慮し寄与率を推定することができるSIARを解析に用いた。SIARに、複数の発生源の数値および測定結果を用いた。測定結果は粒子化しているため、発生源のガスの値とは異なる。そこで、まず本研究にて算出した粒子化分別係数を用いて、粒子の値をガスの値へと補正を行い、その補正後の値を導入することとした。

1) 解析に用いた粒子状物質のサンプリングについて

粒子中の硝酸イオンの結果は、以前、秋田県由利本荘市にある秋田県立大学にて行った結果を用いた¹⁰⁾。サンプリング地点は、秋田県立大学本荘キャンパステニスコート付近であった。秋田県立大学は西に5 kmほどに日本海があり、また周辺には特徴的な工場などはない地点である。粒子は、粒径の大きいSPM（粒径が10 μm以上を100 %カット）であり、ハイボリュームエアサンプラー（柴田科学社製、HVS-1000、以下はHVS）にて、吸引速度は1000 L/minで捕集した。サンプリング期間は、2008年4月3日～2010年12月14日の間（捕集期間は5日から15日）で、サンプル数は合計89個であった。また捕集フィルターには吸湿性が低いグラスファイバーフィルター（ADVANTEC社製、GB-100R）が使われた。

2) 寄与率の算出方法

温度とガスから粒子への分別係数の関係は、 $y = 0.13x + 1.05$ ($R^2 = 0.87$) (y : 粒子化分別係数、 x : 温度) となり（この関係については、後述）、これらの式から、粒子中の硝酸イオンを硝酸ガスへと変換を行った。硝酸ガスから窒素酸化物への窒素同位体比の同位体分別はないものと仮定した。窒素酸化物の発生源の数値としては、既往の研究より、自然由来、燃焼由来、自動車排ガスの3種類に区分した。一般環境中の測定値は、季節ごと（春: 3月～5月、夏: 6月～8月、秋: 9月～11月、冬: 12月～2月）に区分し、それぞれ寄与率の算出を行い、発生源の解析を行った。

4. 結果及び考察

(1) 脱窒菌法による分析とアンモニアの反応実験

1) 脱窒菌法による分析方法の検討と試薬を用いた検証

装置に関しては様々な改良も試み、秋田県立大学にて測定した硝酸カリウム及び硝酸ナトリウムの $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{18}\text{O}$ をスタンフォード大学のK.Casciotti研究室やEA/IRMSの測定結果と比較/検証を行った(表1左)。窒素安定同位体比は0.1‰～0.2‰、酸素安定同位体比は0.2‰～0.3‰と高精度分析で測定が可能であった。また、スタンフォード大学とのこの結果を比較したところ、今回測定した結果で窒素安定同位体比の誤差は0.2‰以下、酸素安定同位体比の誤差は0.5‰以内だったことから、高精度な分析が行えたと考えられた。また、EA/IRMSの測定結果と比較しても問題なく、高精度に分析が可能であることがわかった。これらの結果より脱窒菌法を用いた窒素・酸素安定同位体比分析はともに高精度かつ高精度分析が可能であると考えられた。

2) アンモニウムイオンから亜硝酸への反応実験

測定の結果、アンモニア中の $\delta^{15}\text{N}$ の測定結果は0.3‰以下となり、高精度な測定結果となった。また、EA/IRMSとの比較は、ほぼ高精度に分析出来ることがわかった(表1右)。よって、臭素酸溶液によるアンモニウムイオンを亜硝酸イオンに反応する分析方法は、ほぼ問題なく変換でき、また脱窒菌法にて高精度かつ高精度に分析が可能であることがわかった。

表1 本研究における硝酸、アンモニアの中の $\delta^{15}\text{N}$ の検証(‰)

	Akita		EA		Stanford			Akita		EA	
	$\delta^{15}\text{N}$	S.D.	$\delta^{15}\text{N}$	S.D.	$\delta^{15}\text{N}$	S.D.		$\delta^{15}\text{N}$	S.D.	$\delta^{15}\text{N}$	S.D.
$\text{KNO}_3(\text{W})$	0.45	0.1	0.50	0.2	0.45	0.0	$\text{NH}_4\text{Cl}(\text{W})$	0.11	0.2	-1.15	0.2
$\text{KNO}_3(\text{W})$	-1.71	0.2	-2.09	0.1	-1.88	0.1	$\text{NH}_4\text{Cl}(\text{K})$	0.76	0.3	0.28	0.1
$\text{KNO}_3(\text{S})$	-1.68	0.1	-2.44	0.0	-1.81	0.1	$\text{NH}_4\text{Cl}(\text{S})$	-6.23	0.1	-5.89	0.2
$\text{KNO}_3(\text{K})$	-1.42	0.2	-2.07	0.2	-1.36	0.1	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4(\text{W})$	-12.0	0.1	-11.1	0.1
$\text{NaNO}_3(\text{S})$	12.87	0.1	12.54	0.3	13.04	0.2	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4(\text{K})$	-12.6	0.2	-12.9	0.4
$\text{NaNO}_3(\text{K})$	2.48	0.1	1.94	0.1	2.52	0.1	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4(\text{S})$	-2.67	0.1	-2.10	0.1
							$\text{CH}_3\text{COONH}_4(\text{W})$	-2.94	0.2	-1.13	1.2

(2) ガスから粒子への反応の際の粒子化分別係数

1) アンモニアガスの温度変化における粒子化分別係数

アンモニアの粒子化分別係数は、33‰(-5℃)、34‰(5℃)、40‰(25℃)、47‰(35℃)であった(図6)。粒子化分別は温度が高い程係数が大きくなることが分かった。これにより、国内外で初めて、実際に粒子を生成した実測値からアンモニアガスの粒子化分別係数を算出することができた。これほど大きな分別係数になった理由としては、以下のように考えられた。一般的に、 ^{15}N を含む分子は ^{14}N を含む分子よりも結合力が強く安定である。そのため、アンモニアからアンモニウムイオンが生成する反応では、 ^{14}N を含んだ $^{14}\text{NH}_3$ が優先的に反応し、粒子を形成すると考えられる。この場合、 NH_4^+ エアロゾルは元の NH_3 ガスよりも軽い同位体比をとる(同位体は非平衡)。しかし、時間が経過し、ガス-粒子間で反応が平衡反応に達した場合は(恐らく、瞬間的に平衡反応に達する)、 ^{15}N を含んだ $^{15}\text{NH}_4^+$ が粒子中に取り残され、同位体比は急激に増加すると考えられる。そして、平衡反応も時間が経過すると同位体平衡に達すると考えられる。実際に、先ほどの結果を見ても、約10分で平衡反応を示していた。本研究の結果は、既往の研究の値(+33‰)とそれほど大きく変わらないことがわかった。また気温だけ考えれば、冬季よりも、夏季において、粒子中の $\delta^{15}\text{N}$ -アンモニウムイオンは5‰程度重くなることが予想された。

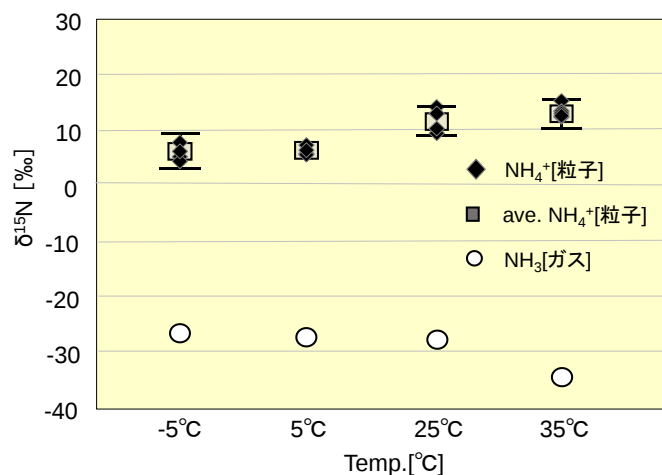


図6 アンモニアガスから粒子へ粒子化分別係数

2) 硝酸ガスの温度変化における粒子化分別係数

粒子化後の窒素安定同位体比の値は -2.1‰ ～ 4.2‰ と温度が高くなるほど重くなった(図7)。硝酸ガスの温度ごとの同位体比と比較し粒子化分別係数を算出すると、粒子化分別係数は、 5.9‰ (-5°C)、 2.0‰ (5°C)、 3.5‰ (25°C)、 6.3‰ (35°C)であった。粒子化分別は、温度が高い程、分別係数が大きくなることが分かった。これにより、初めて硝酸の粒子化分別係数を算出することができた。また、同じ地点での硝酸ガスと粒子中の硝酸イオンの窒素安定同位体比の変化は、約 $+5\text{‰}$ との結果もあり、本研究の分別係数は妥当な値であることが推察された。

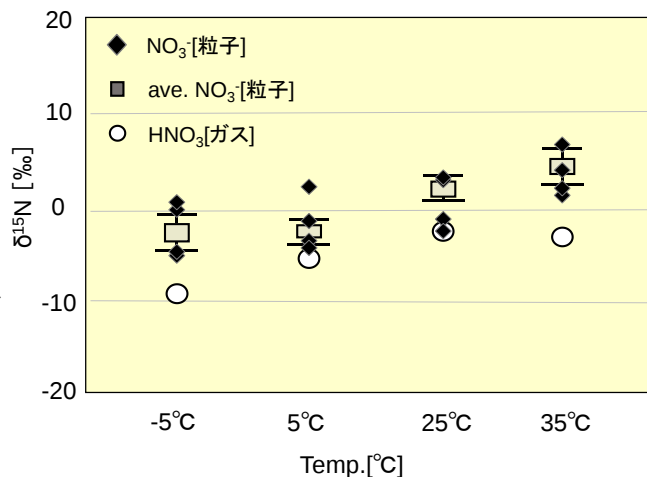


図7 硝酸ガスから粒子への粒子化分別係数

(3) パッシブサンプラーにおけるサンプリング

アンモニアの窒素安定同位体比は、年間を通して駐輪場(-1.5‰ ～ -15.5‰ 、平均 $-10.3 \pm 3.0\text{‰}$)、駐車場(-8.2‰ ～ -17.0‰ 、平均 $-11.9 \pm 2.5\text{‰}$)の値を推移しており、2地点間での大きな変化はなかった。また、駐輪場においては、若干の季節傾向が見られた(春： -11.4‰ 、夏： -13.7‰ 、秋： -11.8‰ 、冬： -10.6‰)。また、濃度は駐輪場(0.1 ppbv ～ 40.4 ppbv)、駐車場(0.3 ppbv ～ 76.7 ppbv)であった。二酸化窒素中の窒素安定同位体比は、年間を通して駐輪場(-6.1‰ ～ -12.0‰ 、平均 $-9.5 \pm 1.0\text{‰}$)、駐車場(-5.6‰ ～ -10.2‰ 、平均 $-7.9 \pm 1.1\text{‰}$)の値を推移しており、2地点での大きな変化はなかった。一方、酸素安定同位体比は、駐輪場(-14.1‰ ～ 16.7‰ 、平均 $-0.5 \pm 9.3\text{‰}$)、駐車場(-13.7‰ ～ 17.8‰ 、平均 $0.0 \pm 7.5\text{‰}$)となり、窒素安定同位体比と比べて大きな幅を持っていることがわかった。また、濃度は駐輪場(2.0 ppbv ～ 107.2 ppbv)、駐車場(11.2 ppbv ～ 143.4 ppbv)であり非常に低い濃度であった。また、季節傾向は、窒素においては若干(～ 1.5‰)、酸素においては約 10‰ 程度も冬季に重くなる明瞭な傾向があった。

(4) 混合モデルを用いた発生源解析

粒子中硝酸イオンの窒素安定同位体比から硝酸ガス(窒素酸化物)の窒素安定同位体比の値へと換算を行った。硝酸イオンの値は約 -4.6‰ ～ 4.8‰ を推移し、冬季に重く夏季に軽くなるという傾向があったが、換算後の値は -8.6‰ ～ 3.4‰ を推移し、夏期と冬期の値の差が約 12‰ 程度と変換前と比べ値の差は 4‰ 程度大きくなり、より明確に冬季に重く夏季に軽くなるという傾向になることがわかった(図8)。

同位体混合モデルを利用したところ、季節ごとの寄与率は、それぞれ自然由来：春 29% ・夏 37% ・秋 31% ・冬 18% 、燃烧由来：春 38% ・夏 30% ・秋 36% ・冬 47% 、自動車排ガス：春 33% ・夏 33% ・秋 33% ・冬 35% であった(図9)。自動車排ガスの寄与率は、1年間を通して約 30% を推移し、自然由来の寄与率は夏に約 40% 程度、燃烧由来の寄与率は自然由来とは逆に冬に約 50% となっている。このことから、年間を通して、寄与率は変化していることが分かった。自然由来や燃烧由来のような季節によって大きな変動を示す発生源と、自動車排ガスのような年間を通してほとんど変化をしない発生源とを識別することができ、また同位体混合モデルを用いての発生源寄与率の算出は可能であることがわかった。

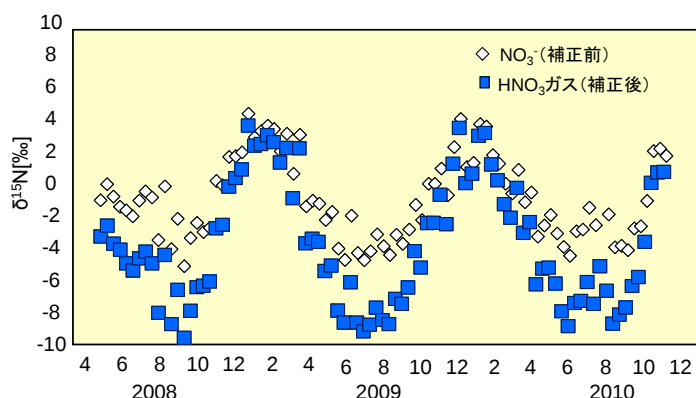


図8 NO_3^- および換算後の窒素安定同位体比

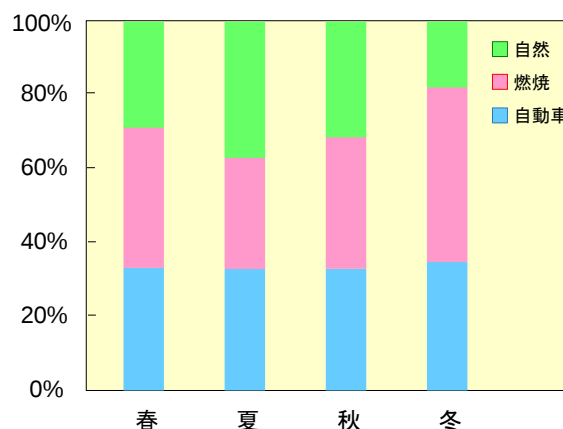


図9 季節ごとの発生源寄与率の推定

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

過去、二次生成粒子は大きな寄与を占めているにも関わらず、イオン成分の濃度測定が主たる研究で、実際に環境中でどのような挙動を示しているか、また発生源はよくわかっていなかった。本研究は、二次生成粒子形成のメカニズム解明や発生源解析に、脱窒菌法という新たな分析方法を適用すること、またガスから粒子への同位体分別係数を算出すること、同位体混合モデルという新たなモデルを応用することが特色であり、独創的な点であると考えている。特に脱窒菌法システムの立ち上げは非常に難しく、安定した測定結果を出せない研究機関も多いと聞いており、実際に高精度かつ高確度な分析方法の確立は科学的にも有益な知見になったと考えている。またスタンフォード大学に短期留学し、様々な技術等を導入できたことは、今後、国内においても重要な情報になると考えられる。また、粒子化分別係数は、過去、理論的なデータか、粒子を模擬した結果のみしかなかったため、実際に粒子を作成して、ガスから粒子への分別係数を算出出来たことは、科学的にも非常に有用な知見になると考えられる。また、それら粒子化分別係数を使って、同位体混合モデルという生態学で使われているモデルを応用して、発生源寄与率を推定出来たことも実用面でも非常に重要な一歩になったと考えている。科学的意義を考慮した本研究開発によって得られた成果をまとめると以下ようになる。

- ① 開発者の一人であるスタンフォード大学のK. Casciotti准教授の研究室に短期留学し、分析方法に限らず、物品選定、洗浄方法、データ解析、管理方法等、詳細に渡る情報収集及び技術を導入することが出来た。
- ② K. Casciotti准教授と研究代表者所属機関用の装置は一部異なるため、改良等も行っており、さらに使い易く、安定した方法を開発することが出来た。その結果、国内研究機関では、まだ数か所程度しか可能になっていない脱窒菌法システムの立ち上げを行うことが可能になった。
- ③ 開発者であるスタンフォード大学と6種の試薬の比較検証実験を行った結果、高精度、高確度な分析法を確立することが出来た。また、アンモニアを臭素酸による酸化反応と脱窒菌法とを組み合わせた方法においても十分、高精度な分析が可能になった。
- ④ ガス状成分（アンモニアガス、硝酸ガス）の窒素安定同位体比、酸素安定同位体比の高精度な分析方法（塗布する試薬やフィルターの枚数の決定等）を確立することが出来た。
- ⑤ 核凝縮型単分散粒子発生機を用いて、ガスから粒子化の分別係数（粒子化分別係数）を国内外で初めて算出することが出来、かつ温度によって分別係数が異なることが判明した。
- ⑥ パッシブサンプラーを用いて、約1年間に渡り、実環境におけるアンモニアガス、二酸化窒素ガス中の窒素安定同位体比、酸素安定同位体比のサンプリングを実施し、季節傾向等があることがわかった。
- ⑦ 算出された温度影響のある粒子化分別係数と同位体混合モデルを用いて、国内外で初めて、粒子中の硝酸イオンの定量的な発生源解析を行うことが出来た。この結果、年間を通して自動車が発生源で、冬季に燃焼由来、夏季に自然由来の発生源寄与率が増加することが明らかになった。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究は、重点課題【17】健全な水・大気の循環、行政ニーズ（17-2）大気環境中におけるPM_{2.5}二次生成メカニズムの解明に関連している。PM_{2.5}は呼吸器疾患等の健康影響が懸念されている物質である。特に粒径が小さいPM_{2.5}は呼吸器の深部まで入りやすく健康を損なう恐れがあり、2009年9月には国内で初めてPM_{2.5}の環境基準値の答申が出された。しかし、PM_{2.5}は環境基準値を超える地域も多数あること、またSPMは近年大きな濃度低減は見られないことなど、これまで重点的に規制を行ってきた自動車だけに限らない多様な汚染源の存在が示唆され、その実態解明の必要性が叫ばれている。特に大きな寄与を占める二次生成粒子の環境動態は越境汚染も含めて解明する必要があるものの、現状、どの程度、アンモニアガスや窒素酸化物などが、我が国の粒子に影響しているか等は、ほとんどわかっていないのが現状である。本研究では、二次性粒子のメカニズム解明を通して、今後、規制をかけるために必要となる定量的な発生源寄与率推定を目指し、実際の硝酸イオンの発生源解析を算出した

粒子化分別係数と同位体混合モデルを用いて推定することが出来た。このことは、今後、効率・効果的な環境政策にとって重要なものとなると考えている。

6. 研究成果の主な発表状況

(1) 主な誌上発表

＜査読付き論文＞

特に記載すべき事項はない。

＜査読付論文に準ずる成果発表＞

特に記載すべき事項はない。

(2) 主な口頭発表（学会等）

- 1) 川島洋人 (2015)、アジアにおけるエアロゾル研究の現状と発生源解析、ダッカ大学、バングルデシュ
- 2) 川島洋人 (2015)、アジアにおけるエアロゾル研究の現状と発生源解析、マレーシア国民大学、マレーシア
- 3) Hiroto Kawashima (2016), Source apportionment for aerosol and measurement for stable isotope of NH_3 , NO_2 and NO_x in gas by using Bactria method, Abstract of ASITA-Advances in Stable Isotope Techniques and Applications, Philadelphia

7. 研究者略歴

課題代表者：川島 洋人

横浜国立大学大学院修了、博士（工学）、現在、秋田県立大学准教授

5RF-1401 安定同位体比を用いた二次生成粒子形成メカニズムの解明**(1) 安定同位体比を用いた二次生成粒子形成メカニズムの解明**

秋田県立大学

システム科学技術学部

川島 洋人

平成26～28年度累計予算額：34,298千円（うち平成28年度：9,267千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

近年、粒子状物質による越境汚染などが問題視されている。環境への影響として河川・海水域での富栄養化、酸性雨など、人体への影響として呼吸器障害、視程悪化など様々な課題がある。粒子状物質の主要な成分は、一般的に元素状炭素や有機炭素の他に、二次生成粒子とされ、主に硝酸イオン、アンモニウムイオンなどの窒素化合物がある。発生源は、一部の地域で推計がなされ寄与率も算出されているが、明確に特定されておらず、特に二次生粒子は不明なままである。粒子状物質の汚染対策を進める上で、二次生成粒子のメカニズム解明や発生源解析など実態解明は必須である。最近になって、硫黄、炭素、窒素等の軽元素の安定同位体比が、粒子状物質の動態解析において注目され始めている。特に、脱窒菌法という菌を使った極微量での新たな分析方法も開発され始めており、粒子状物質への応用が始まりつつある。

本研究は、新たな分析方法である脱窒菌法を用いて、ガス状成分や粒子状物質の窒素安定同位体比を分析し、二次生成粒子の発生源を解明することを目的とした。脱窒菌法の分析方法に関しては、開発者の一人であるスタンフォード大学のK. Casciotti准教授の研究室へ技術習得のため短期留学し、また装置に関しては様々な改良も試みた。最終的にはスタンフォード大学と同じ試薬を測定、比較したところ、高精度かつ高確度に分析できるようになった。また、様々なガス状成分の安定同位体比の分析方法を確立した上で、核凝縮型単分散粒子発生機を用いてガスから粒子化の分別係数を実験上、国内外で初めて算出することが出来た。これらの結果より、温度によって分別係数に違いがあることが明らかになった。さらに、温度を加味した分別係数と同位体混合モデルを用いて、粒子中の硝酸イオンの発生源の寄与率を定量的に算出することが出来た。本研究で開発された分析方法や、安定同位体のアプローチは、今後、粒子状物質、特に二次生成粒子の起源推定において、重要な知見と役割を果たすことが期待される。

[キーワード]

粒子状物質、窒素安定同位体比、粒子化、発生源解析、混合モデル

1. はじめに

粒子状物質による健康被害が問題となっているが、未だ原因や発生源の特定に至っていない。春季において中国内陸部などで発生した黄砂が偏西風に乗り日本に越境していることが証明されつつあるが、日本海沿岸地域において冬季にも粒子状物質が越境していることも懸念され始めている。粒子状物質であるSPMやPM_{2.5}をさらに低減するためには、越境汚染も視野に入れた上での新たな発生源解析法の開発が必須である。なお、SPMは粒径10 µmを100 %カットオフした粒子のことで、PM_{2.5}は粒径2.5 µmの粒子を50 %カットオフした粒子のことを指す。

近年、硫黄、炭素、窒素等の軽元素の安定同位体比が、粒子状物質の動態解析において注目され始めている。安定同位体比は、複雑に絡み合った粒子状物質の発生源の解明にはまたとない指標となり得る。炭素安定同位体比を利用した粒子状物質の起源推定の研究をはじめ、硫黄安定同位体比、酸素安定同位体比¹⁾および窒素安定同位体比²⁾⁻²⁰⁾を利用した粒子状物質の起源推定の研究が数多く行われている。

1990 年代になって、元素分析計 (Elemental Analyzer, EA) やガスクロマトグラフ (Gas Chromatograph, GC) と安定同位体比質量分析計 (Isotope Ratio Mass Spectrometer, IRMS) の融合・実用化が行われ、分析技術が広く普及し始めた (以下、EA/IRMS)。

なお、 δ の定義は以下の式 (1) により説明される。

$$\delta (\text{‰}) = (R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}} - 1) \times 1000 \quad (1)$$

ここで R_{sample} は測定試料の同位体比を示し、 R_{standard} は標準物質の同位体比を示す。測定結果は標準物質の同位体存在比からのずれとして便宜的に千分率 (‰、パーミル) で表される。

さらに浮遊粒子状物質中のアンモニウムイオンと硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ を測定するためには、前処理としてアンモニウムイオンと硝酸イオンを相互に分離し、さらにEA-IRMSにて分析する目的で固形物に変換する以下のような一連の方法が確立されている²¹⁾。

まず、1) 浮遊粒子状物質から超音波抽出機等を使ってアンモニウムイオンと硝酸イオンを抽出する。2) 次に蒸留を行う。蒸留操作ではフィルター抽出液に水酸化ナトリウムを加え、強アルカリ条件で加熱することにより、アンモニウムイオンだけを水蒸気とともに蒸発させる。蒸留液の受器には硫酸溶液を入れておき、蒸発したアンモニウムイオンをトラップする。3) 蒸留後にフラスコ内に残った液を残渣と呼び、残渣中には硝酸イオンが残っている。残渣溶液にデバルダ合金 (アルミニウム: 約45 %, 銅: 約50 %, 亜鉛: 約5 %の合金) を入れて硝酸イオンをアンモニウムイオンに還元後蒸留し、同様に硫酸溶液にてトラップする。4) 得られた2つの留出液は、それぞれにテトラフェニルホウ酸ナトリウムを加えて反応させ、テトラフェニルホウ酸アンモニウムとして沈殿させる。5) これらの固形物をメンブレンフィルターによる濾過で回収し、乾燥後、6) 得られた固形物を2 mg ~ 3 mg程度をすず製コンテナに封入し、EA-IRMS用いた窒素安定同位体比分析に供する。なお、分析精度を調べるために、窒素安定同位体比が既知の和

光純薬工業社製の塩化アンモニウム (-5.91 ‰) と硝酸カリウム (0.45 ‰) を混合し、標準試料とした。本手法を用いて実験した結果、それぞれ $-5.94 \pm 0.04\text{ ‰}$ 、 $0.30 \pm 0.14\text{ ‰}$ ($n = 6$) と極めて高い精度 (通常、標準偏差で 0.2 ‰ 以下ならば十分な精度だと考えられる) が得られた¹⁰⁾。しかしながら、この分析方法は、途中の蒸留の際に、装置流路の洗浄を行わないと、 1 ‰ 程度同位体分別が生じてしまうため十分に注意する必要がある (これは流路に重いアンモニウムイオン ($^{15}\text{NH}_4^+$) が残っているためと考えられる)、高精度分析のための必要な絶対量が窒素換算で $1000\text{ }\mu\text{g-N}$ ほど必要であるなど、浮遊粒子状物質の測定の場合、必要量を確保するためには1週間から10日等長いサンプリング期間が必要となってしまうなど欠点となっている。

最近になって、硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ を測定するために、脱窒菌を使った方法 (以下、脱窒菌法) が開発された²²⁾。この方法は、脱窒菌という菌を用いて、硝酸イオンを亜酸化窒素へ変換し、窒素や酸素の安定同位体比を分析する方法である。地球科学の分野で応用が始まり、環境試料の微量な硝酸イオンの安定同位体分析に利用されている²³⁾。さらに、土壌、地下水、降雨、大気粒子などの様々な試料の測定に応用されつつある。この方法の特徴は、前述したアンモニア蒸留法と比べて菌の維持管理という手間がかかるもの以下の利点が挙げられる。(1) 高感度、高精度であるために必要なサンプル量が極めて少ない (300 ng-N)、(2) 試料の処理工程が短時間であり、簡易である、(3) 窒素安定同位体比と酸素安定同位体比を同時に分析が可能である、等の利点を有している。また、アンモニウムイオンを還元することで硝酸イオンにして、それらを脱窒菌法にて $\delta^{15}\text{N}$ を分析する方法も開発されつつある^{24) 25)}。その他の方法としては、塩酸蒸気にて分離する方法も提案されつつあり¹²⁾、様々な方法により、高い時間分解能での粒子状物質中のアンモニウムイオンと硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ の測定が実施されようとしている。

また、近年、混合モデルに安定同位体比を導入した同位体混合モデルという統計的な解析手法が開発された。消費者と餌の安定同位体比から、消費者が消費した各餌種の寄与率を計算することができる方法であり、生態学分野では活発に応用され始めている。現在では、複数のモデルが開発されており、一般的に知られているモデルとしては、Iso Source²⁶⁾ や SIAR²⁷⁾ (Stable Isotope Analysis in R, SIAR)、MixSIR²⁸⁾ などが挙げられ、このほかにもさまざまなモデルが開発されている。これによって、生態学の分野において、炭素、窒素、硫黄等の安定同位体比から、食物網構造を探る試みがなされてきた²⁹⁾。生物の体を構成する炭素や窒素などの元素には、質量数が異なる安定同位体が存在し、これらの安定同位体比は生物間で異なる。その主な要因は、安定同位体の質量の違いに起因する生物体内での取り込み速度や排出速度の違いと、安定同位体比の異なる餌生物を捕食するためである。さらに最近では、生態学の分野だけではなく、環境汚染物質の分野にも同位体混合モデルの応用が始まっている^{30) 31)}。Panら (2016) は³¹⁾、アンモニア性粒子の測定を行い、理論的な分別係数を用いて、ガスに変換して、それらの $\delta^{15}\text{N}$ の結果を元に Iso Source を用いて発生源の推定を行った。アンモニア性粒子を生成しているのは、発生源が異なった様々な異なる窒素同位体比を持つアンモニアガスであるという捉え方をし、生態学における生物を粒子に、食物をガスに置き換えることで解析を可能とした。しかし、この解析で使った Iso Source に導入する同位体比の値は平均値であり、ばらつきを考慮することができていな

い。SIARは、ベイズ推定を用いた混合モデルであり、マルコフ連鎖モンテカルロ法 (MCMC法) を用いることで変数が3つ以上の式からも最適解を算出することが可能である。大きな特徴としては、ばらつきも分布を用いることで考慮することが可能であり、より詳細な寄与率の推定が可能である。環境分野においては、発生源の値、実測値の値などにばらつきが発生するためこれらすべてを網羅することができるという利点がある。本研究では、安定同位体比や係数の値のばらつきを考慮し寄与率を推定することができるSIARを解析に用いた。

2. 研究開発目的

本研究では、脱窒菌法を使った安定同位体比を用いた粒子状物質中の二次性粒子の形成メカニズムの解明、発生源解析を目指す。先行研究としては、研究代表者によって、国際学術雑誌であるAtmospheric Environment誌に『窒素安定同位体比を用いたアンモニウムイオン、硝酸イオンの環境動態解析』¹⁰⁾と『炭素安定同位体比を用いた冬季の越境汚染について』³²⁾という内容で2報、それぞれ2011年、2012年に報告した。これらの研究では、春の黄砂だけでなく、冬にも粒子状物質が越境汚染している可能性があることをいち早く示すことが出来た。しかし、二次生成粒子のメカニズムに関しては、未だに不明点も多く、また定量的に発生源解析が出来ておらず、さらに進める必要がある。特に、ガスから粒子へ反応する際の同位体分別係数は、起源推定するには非常に重要な情報であるにも関わらず、実際に実験をして算出した報告は皆無である。

具体的には、(1) 脱窒菌法を用いた二次生成粒子のアンモニウムイオン、硝酸イオン、その前駆物質であるアンモニアガス、硝酸ガスの窒素安定同位体比の高精度分析法を確立すること、(2) ガスから粒子への同位体分別係数を算出すること、(3) 最終的には、二次生成粒子がどの発生源の影響を受けているのか同位体混合モデルを用いて定量的に推定することを目指した。

3. 研究開発方法

脱窒菌法を用いた硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 、アンモニウムイオンの $\delta^{15}\text{N}$ の高精度分析方法の確立を目指した。また脱窒菌法の分析に関しては、本研究開始時には全く行われていなかったため、脱窒菌の管理維持、装置のセットアップ等も行った。装置は、研究代表者所属機関が保有する安定同位体比質量分析計 (DeltaXP、サーモフィッシャーサイエンティフィック社製) を使用した。また、脱窒菌法の開発者の一人であるスタンフォード大学のK. Casciotti准教授のところ短期留学して、細かいテクニックやデータ管理方法などを習得し、さらに高精度分析方法の確立を目指した。また、硝酸が入った6種の試薬をスタンフォード大学で分析を行い、秋田県立大学との比較・検証を行った。アンモニウム中の $\delta^{15}\text{N}$ の高精度分析法の確立のために、アンモニアが入った7種の試薬を用いて検証を行った。

脱窒菌法の高精度分析方法を確立した後、ガス状成分 (アンモニアガス、硝酸ガス) の $\delta^{15}\text{N}$ の分析法の検討を行った。その後、ガスから粒子化のために核凝縮型単分散粒子発生機を用いて、硝酸ガスから硝酸イオンへの、またアンモニアガスからアンモニウムイオンへのガスから粒子化の際の窒素安定同位体比の分別係数推定実験を行った。さらに、パッシブサンプラーを用いて屋

外のアンモニアガスの $\delta^{15}\text{N}$ 、二酸化窒素の $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ の分析を行った。また、ハイボリウムサンプラーで採取した粒子中の硝酸イオンの発生源寄与率について、同位体混合モデルを用いて算出した。

(1) 脱窒菌法による分析とアンモニアの反応実験

1) 脱窒菌法による分析方法の検討と試薬を用いた検証

脱窒菌によって液体中に含まれる硝酸イオンを亜酸化窒素まで還元し、亜酸化窒素として $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ を分析する脱窒菌法の確立を目指した。分析手順は、2002年に確立されたスタンフォード大学のK.Casciotti准教授らが開発した手順に従った。脱窒菌は米国ATCC社製の(ATCC13985、*Pseudomonas aureofaciens*)という亜酸化窒素還元酵素を持たない脱窒菌株を用いた。これらの菌はATCC社より輸入・購入した。購入後は外注委託(株式会社テクノスルガ・ラボ)によってグリセロールストック(通称:グリスト)を作成した。滅菌済みの爪楊枝を用いて、グリストから寒天培地(アズワン、サニスペック生培地のSCD寒天、2-8885-06)に菌を植え継ぎ、温度が25 °Cと一定であるクールインベキュータ内にて培養した(図1)。1週間後、寒天培地から滅菌済みの液体培地が入った試験管に植え継ぎ、培養した。24時間後、試験管から滅菌済みの液体培地が入った500 mLのバイアル瓶に1 mLずつ菌を植え継ぎ、培養させた。その後、1週間ほど培養させた菌を用いた。なお、液体培地は、ミリQ水10 LあたりにTSB (300 g)、硝酸カリウム (5 g)、塩化アンモニウム (10 g)、リン酸二水素カリウム (50 g)を加え、よく攪拌を行った後に121 °Cで50 分の条件にてオートクレーブにて滅菌処理を行い、作成した。オートクレーブにて滅菌処理された液体培地は図2のようなこげ茶色の溶液となり、脱窒菌を入れるまで室温にて保管した。また 1 週間経過した後、菌をまた新たなプレートに植え継いで合計5週目まで菌の植え継ぎを繰り返し、菌を管理した。図3に菌の管理の全体の流れを示した。

バイアル瓶内の酸素及び液体中の硝酸イオンは消費されて、培地内の硝酸イオンも亜酸化窒素に還元した状態になる。培養した菌は遠心分離機で約5 倍に濃縮した。遠心分離後、上澄み液を捨て、遠沈管の底にペレット状になっている菌を再懸濁の液(図4)にて希釈して、20 mLのバイアル瓶に3 mLずつ分注した。また、希釈の際には消泡剤を数滴入れて、よく振って希釈した。分注後のバイアルは高純窒素ガス(G1グレード、大陽日酸社製)を用いて約3時間パージして、内部を嫌気性状態にして、バイアル内部の亜酸化窒素や酸素を追い出した(図5にパージシステムの写真)。なお、再懸濁の液体培地は、再懸濁液はミリQ水2 LあたりにTSB (60 g)、塩化アンモニウム (0.8 g)、リン酸二水素カリウム (10 g)を加えて作成した。これらも前述した液体培地と同様にオートクレーブにて滅菌処理を行った。

パージ後のバイアルにサンプルを窒素量として50 nmolN程度になるようにシリンジと針を用いて添加した。このバイアルを生成する亜酸化窒素が抜けないように上下を反転させて、25 °Cのインキュベーター内にて一晩かけて試料内の硝酸イオンを亜酸化窒素まで還元させた。その後、10 Mの水酸化ナトリウム溶液を0.1 mLずつサンプルの導入と同じようにシリンジと針を用いて添加し、脱窒菌を溶菌し、反応を止め、pHを高くすることによって、亜酸化窒素の分析の際に

邪魔になる二酸化炭素を培地に溶解させた(実際には測定では多少の二酸化炭素が検出される)。

分析システムとしては、オートサンプラーとしてPAL (CTCアナリティカル社製)、濃縮等としてGasBench II、Denitrification Kit (サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)、安定同位体比分析としてDeltaXP(サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)を用いた(図6)。まず、バイアル瓶をPALのサンプルトレイに設置し、バイアル瓶内の亜酸化窒素は、キャリアガスの高純度ヘリウム (G1グレード、大陽日酸社製) と共に GasBench II内部のValco sampling portに導入される。ValcoがLoad状態からInject状態に切り変わると、loop内のヘリウムと亜酸化窒素は、水トラップ、過塩素酸マグネシウム、アスカライトトラップを経て、水と二酸化炭素が除去される。次に液体窒素に浸したステンレスチューブを通すと、亜酸化窒素はステンレスチューブ内にて凝結する。一方、ヘリウムや窒素ガスのように -196°C で凝結しないものは、大気中へ排出される。測定感度に到達するまで凝結させた後(本研究では800 sec)、GCカラム (PoraPlot Qカラム) に移動し、各成分に分離される。その後、Open splitを経て、DeltaXPに移動し、亜酸化窒素として $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ が測定される。分析の概要は図7に示した。なお、バイアル瓶の中の亜酸化窒素をGasBench IIに追い出すためには、二重構造になったニードルが利用されているが、本研究ではスタンフォード大学の方法をベースに、さらに使いやすい方法を考え、ニードルを組み立てた(図8)。この新たなニードルによって、ニードル交換に関するコストは百分の一程度まで下げることが出来るようになった。

検証実験としては、スタンフォード大学と秋田県立大学にて6種の硝酸試薬を脱窒菌法によって、それぞれ測定を行った。6種の硝酸試薬としては、硝酸カリウム(和光純薬工業社製、Lot. DEL5449)、硝酸カリウム(和光純薬工業社製、Lot. WSG7282)、硝酸カリウム(シグマアルドリッチジャパン社製)、硝酸カリウム(関東化学社製)、硝酸ナトリウム(シグマアルドリッチジャパン社製)、硝酸ナトリウム(関東化学社製)を用いた。なお、分離前のバルクの安定同位体比に関しては、申請者所属機関が保有する元素分析計と安定同位体比質量分析計が融合したEA/IRMS (Elementar社製) を使用して分析した。



図1 ATCC13985の寒天培地（左）、試験管培地（右）



図2 500 mL液体培地（左）、500 mL液体培地の底（右）



図4 再懸濁液（左）、インキュベーターによるサンプルの還元（右）



図5 脱窒菌法のパージシステム

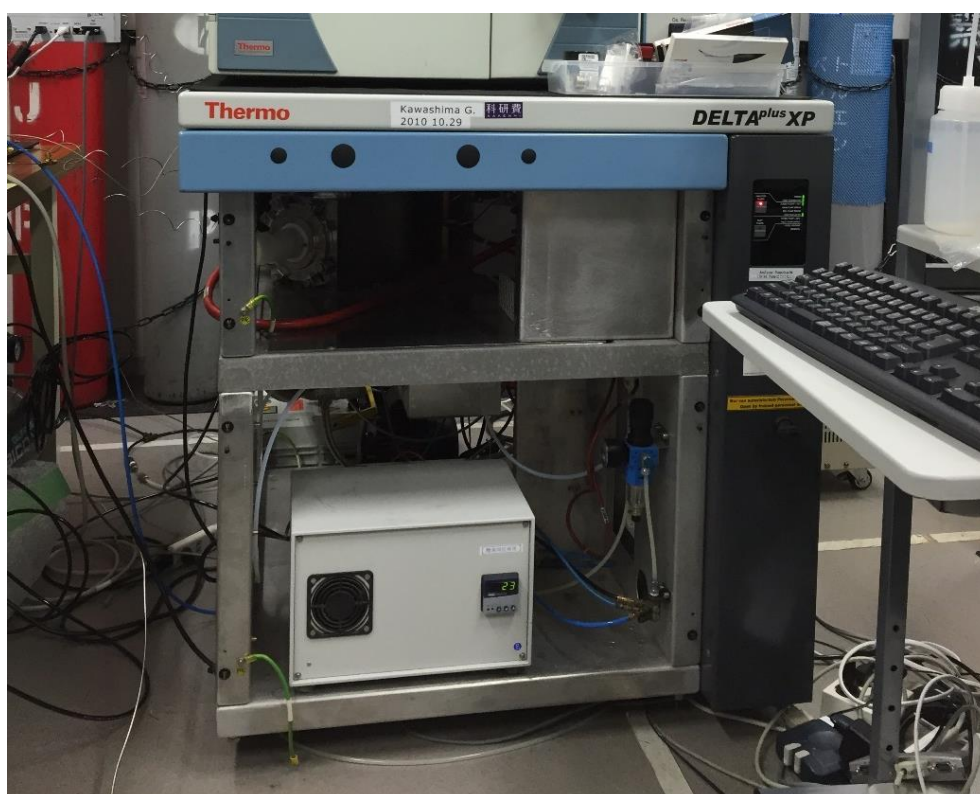


図6 脱窒菌法システム（上）、安定同位体比質量分析計（下）

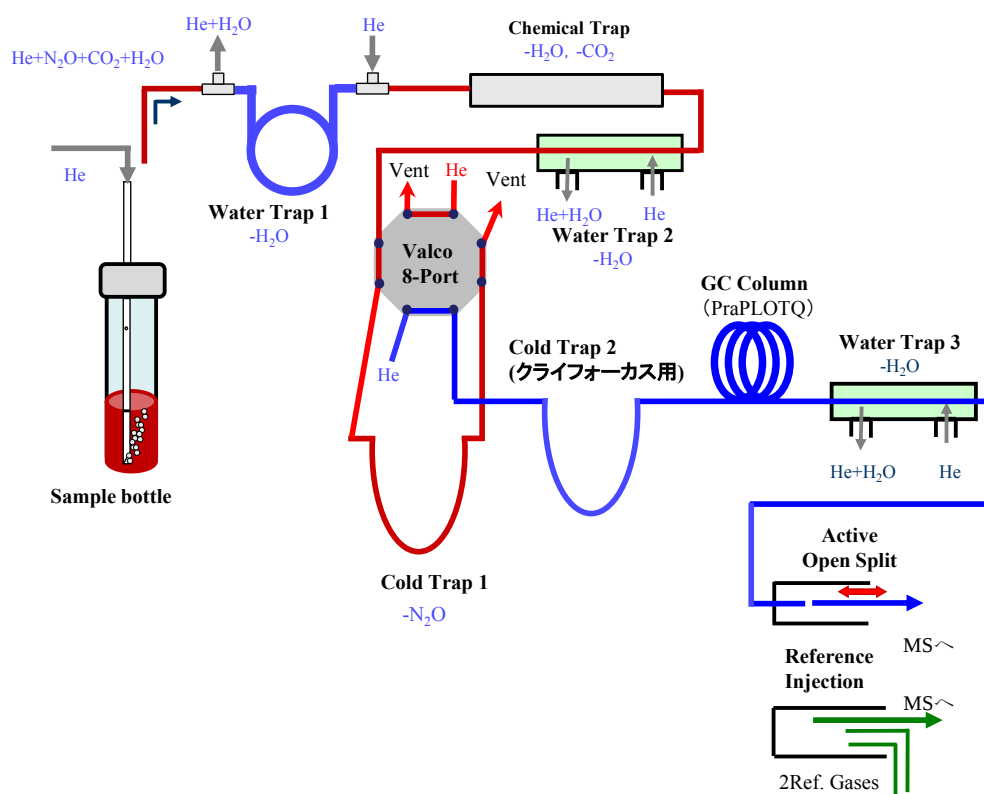


図7 脱窒菌法システムの流路図 (Thermo Fisher Scientific社製、2014)

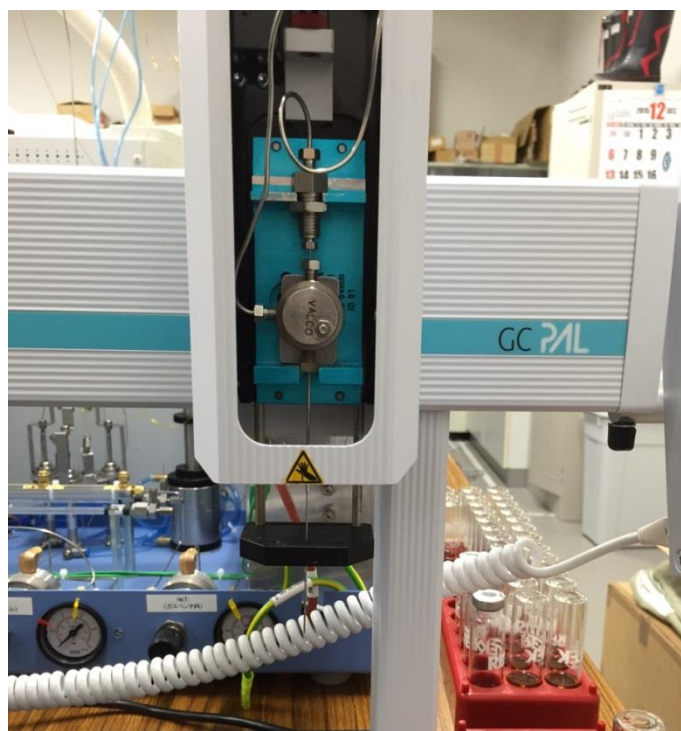


図8 亜酸化窒素を追い出すための新たなニードル

2) アンモニウムイオンから亜硝酸への反応実験

脱窒菌法ではアンモニウムイオンは分析することができないため、まずアンモニウムイオンを亜硝酸イオン（もしくは硝酸イオン）に酸化させる必要がある。本研究では、臭素酸イオン/臭化イオンを含んだ溶液を用いることで、アンモニウムイオンから亜硝酸イオンに酸化させた^{24) 25)}。まず、酸化させるための臭素酸元液を作成した。臭素酸元液は、0.5 gの臭素酸ナトリウムと5 gの臭化ナトリウムを250 mLのミリQ水に溶かして作成した。この臭素酸元液は半年以内に使用した。次に1 mLの臭素酸元液、3 mLの6 M塩酸を50 mLのミリQ水を溶かし、5 分間暗所で反応させ、暗所反応をさせた後、50 mLの10 NのNaOHを加えて臭素酸反応液を作成した。サンプル溶液20 mLあたり2 mLの臭素酸反応液を加え、1 時間ほど振とうさせてアンモニウムイオンから亜硝酸イオンに反応させた。反応は、紫外可視分光光度計（V-560、日本分光社製）を用いて亜硝酸イオンへ反応しているか反応試薬（HACH0596、Hach社）を用いて確認した。また、反応させた後にサンプルは反応液より強アルカリ性へと変化しているため、脱窒菌法のためには、6 N 塩酸や10 N 水酸化ナトリウムをサンプル溶液に滴定させて、pH計を使って、pH3 ～ 9へと調整し、脱窒菌法にて溶液を測定できる値にまで変化させた。一連の流れは、図9に示した。

検証実験としては、7種のアンモニウムイオンを含む溶液に臭素酸溶液を用いて、亜硝酸イオンに変化させて脱窒菌法によって測定を行った。アンモニウムイオンを含む溶液としては、以下の7つの試薬である塩化アンモニウム（和光純薬工業社製）、塩化アンモニウム（関東化学社製）、塩化アンモニウム（シグマアルドリッチジャパン社製）、硫酸アンモニウム（和光純薬工業社製）、硫酸アンモニウム（関東化学社製）、硫酸アンモニウム（シグマアルドリッチジャパン社製）、酢酸アンモニウム（和光純薬工業社製）の試薬を用いて、測定を行った。また、EA/IRMSの結果と比較/検証を行った。

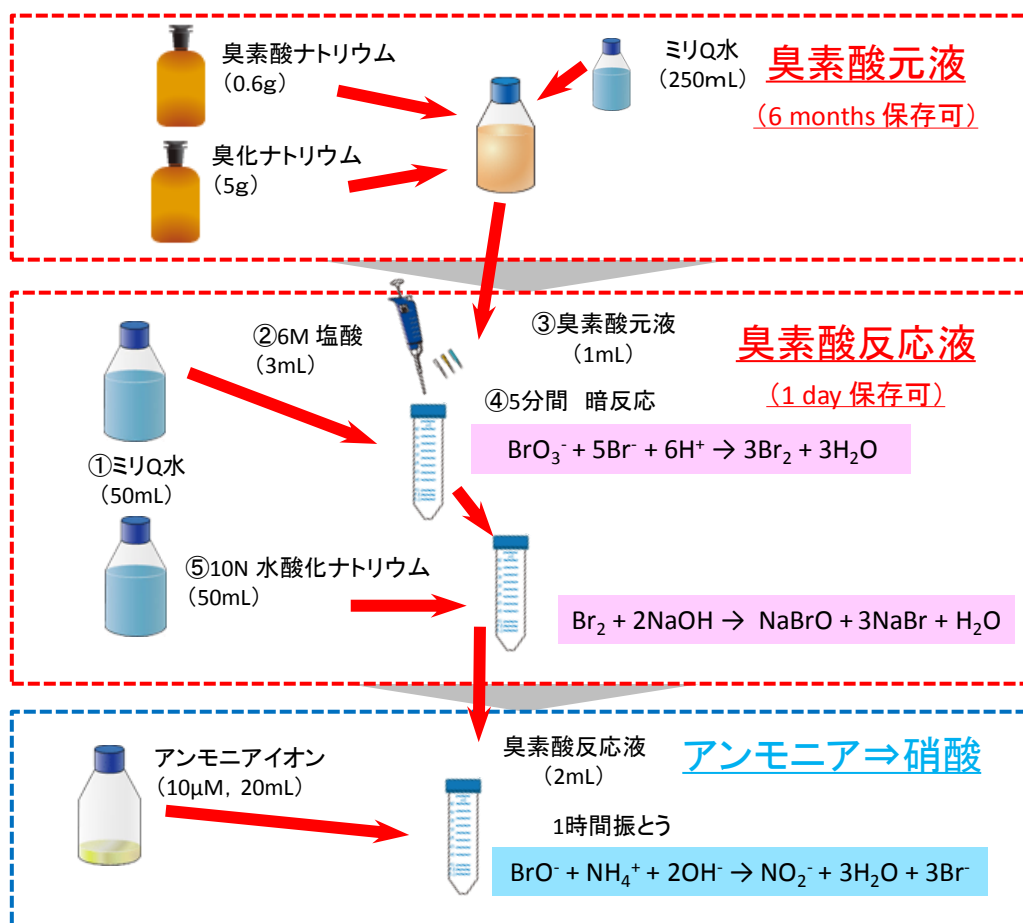


図9 アンモニウムイオンから亜硝酸イオンへの変換概略図

(2) ガスから粒子への反応の際の粒子化分別係数

1) ガス状成分の捕集方法

ガス状成分の捕集は、フィルターパック法を用いて行った。フィルターパック法とは、何らかの試薬を塗布したフィルターを複数段、配置してガス状成分を捕集する方法であり、乾性沈着等の測定で使われている方法である。一般的には、粒子状成分とガス成分を分離するため、1 段目のフィルターで粒子状成分を捕集し、2 段目以降のフィルターでガス成分を捕集する。フィルターパックの前段部に PM_{2.5}分粒装置を取り付けることで、粒子状物質 (PM_{2.5}) を捕集したフィルターを質量濃度測定やイオン成分分析及びその他の成分分析にも使用できる。ただし、粒子状成分を捕集するフィルター上で起こるガス成分の吸着や揮発性粒子状成分の揮散、ガス成分と粒子状成分との化学反応等に起因して、ガス成分及び粒子状成分の正負の測定誤差が生じる。

本研究では、ガス成分のフィルターホルダーとして3段使用のニールフィルターホルダー（東京ダイレック社製、図10）、粒子成分のフィルターホルダーとして多段フィルターホルダー（柴田科学社製）を使用した。ガス成分捕集用フィルターには、セルロースフィルター（No.5A、ADVANTEC社製）を使用し、対象ガス成分に合わせ捕集溶液（後述）を塗布した。図11にニールフィルターホルダーを2 個使ってガスを捕集している様子を示した。



図10 本研究で使用したニールフィルターホルダーの分解写真



図11 ニールフィルターホルダーを使ってガスを捕集している様子

2) ガス状成分（アンモニア、硝酸、二酸化窒素、一酸化窒素）の捕集液の作成方法

ガス成分の測定方法³³⁾を参考に、フィルターパック法にて使用するガス成分捕集フィルターの作成を行った。手順は、以下のようになっている。1) 塗布する溶液を作成する（ガス成分ごとの詳細な手順は、後述）、2) 作成した溶液を3 つに分け、それぞれNo.1 ～ 3とする（本研究では、プラスチック容器を使用）、3) フィルター（No.5A、ADVANTEC社製）をNo.1から順に1 分間浸ける（浸す際は、溶液が良く染み込むように攪拌する）、4) 1 分間後、No.1からNo.2へフィルターを移す（移す際は、余分な水分を落とす）、5) 4) と同様な操作をNo.2からNo.3も行う、6) 大型のセルロース濾紙に寄せ水分を取る（フィルターを濾紙2 枚で挟むようにする。（現在は、セルロース製不織布（ベンコット M-3II、旭化成社製））を用いて水分を取っており、捕集溶液の使用期限は1か月程度とした（図12））。



図12 捕集用フィルター作成のための必要物品

本研究で使用する捕集溶液の作成方法は以下にまとめる。

●アンモニアガス捕集溶液

リン酸（特級試薬、関東化学社製）、グリセリン（特級試薬、和光純薬工業社製）

・ リン酸5 %水溶液 (300 mL)

(リン酸15 g) / (ミリQ水)

・ リン酸5 % + グリセリン2 %水溶液 (300 mL)

(リン酸15 g + グリセリン6 g) / (ミリQ水)

・ リン酸5 % + グリセリン10 %水溶液 (300 mL)

(リン酸15 g + グリセリン30 g) / (ミリQ水)

●硝酸ガス捕集溶液

炭酸カリウム（特級試薬、和光純薬工業社製）、グリセリン（特級試薬、和光純薬工業社製）

・ 炭酸カリウム酸6 %+ グリセリン2 %水溶液 (300 mL)

(炭酸カリウム18 g + グリセリン6 g) / (ミリQ水)

●二酸化窒素ガス捕集溶液

トリエタノールアミン（特級試薬、関東化学社製）、水酸化カリウム（特級試薬、和光純薬工業社製）、メタノール（特級試薬、和光純薬工業社製）、アセトン（特級試薬、和光純薬工業社製）

・ トリエタノールアミン10 %水溶液 (300 mL)

(トリエタノールアミン30 g) / (ミリQ水)

・ トリエタノールアミン30 %水溶液 (300 mL)

(トリエタノールアミン90 g) / (ミリQ水)

・ トリエタノールアミン50 %水溶液 (300 mL)

(トリエタノールアミン150 g) / (ミリQ水)

- トリエタノールアミン70 %水溶液 (300 mL)
(トリエタノールアミン210 g) / (ミリQ水)
- トリエタノールアミン10 % アセトン溶液 (300 mL)
(トリエタノールアミン30 g) / (アセトン)
- トリエタノールアミン10 % + 水酸カリウム20 %水溶液 (300 mL)
(トリエタノールアミン30 g + 水酸化カリウム60 g) / (ミリQ水)
- トリエタノールアミン20 % + 水酸カリウム40 %水溶液 (300 mL)
(トリエタノールアミン60 g + 水酸化カリウム120 g) / (ミリQ水)

●一酸化窒素ガス捕集溶液

トリエタノールアミン（特級試薬、関東化学社製）、PTIO（特級試薬、和光純薬工業社製）、アセトン（特級試薬、和光純薬工業社製）

- トリエタノールアミン10 % + PTIO 0.2 %アセトン溶液 (300 mL)
(トリエタノール30 g + PTIO 0.6 g) / (ミリQ水)
- トリエタノールアミン10 % + PTIO 3 %アセトン溶液 (300 mL)
(トリエタノール30 g + PTIO 9 g) / (ミリQ水)

3) 粒子状物質の作成方法

凝縮型単分散粒子発生器は、キャリアガスに高純度窒素ガス（G3グレード、大陽日酸社製）を用い噴霧装置であるコリゾンアトマイザーにて核となる塩化ナトリウムの微小粒子を発生させる。次に、リヒーター部にて均一化し、最後に冷却凝縮部での核凝縮により単分散エアロゾル粒子を発生させる。最後に、キャリアガスとともに粒子を発生させる（図13、14）。発生させた粒子は、対象ガスを封入したテドラーバッグに注入していく。条件として、リヒーター部の温度は300 °C、装置内窒素の圧力は2.0 barを基本とした。

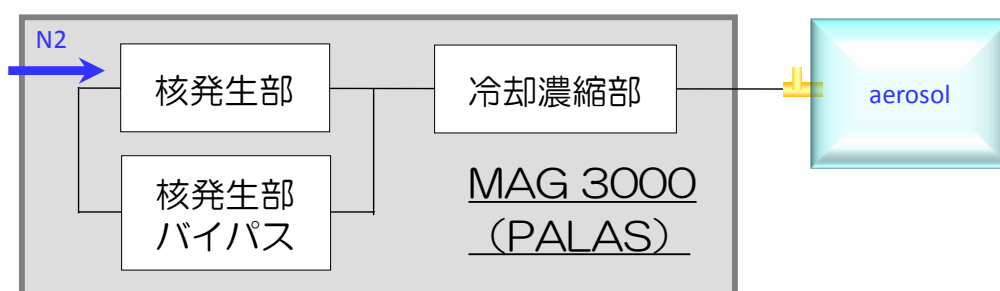


図13 凝縮型単分散粒子発生器（MAG 3000）の概略図



図14 凝縮型単分散粒子発生器（MAG 3000）

4) 粒子状物質に含まれるイオン成分の濃度測定方法

フィルターを回収し50 mLのミリQ水で超音波を30 分かけてイオン成分を抽出した。その後、抽出液をディスポフィルター（ミニザルト RC 15、ザルトリウス社製）を通過させ、フィルター一片等の微粒子を除去した。フィルター通過後の抽出液を10 mL試験管に移し替え、成分ごとの比色反応試薬を溶かし、比色反応を行った。比色反応後、抽出液中に含まれる成分濃度を測定するために、それぞれの試験管を紫外可視分光光度計（V-560、日本分光社製）で測定した（図15）。また、以下に使用した比色反応試薬を示した（表1）

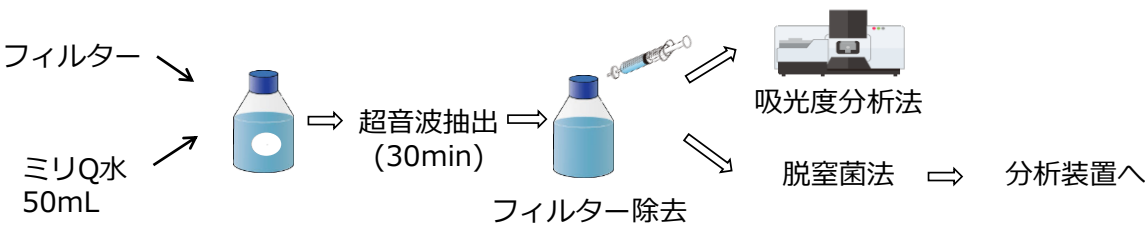


図15 フィルター捕集後から測定までの流れ

表1 比色反応試薬一覧

対象成分	試薬名	波長
アンモニア	・サリチル酸試薬 (Hack 社製)	655 nm
	・シアヌール酸試薬 (Hack 社製)	
硝酸	・硝酸試薬 (Hack 社製)	507 nm
	・亜硝酸試薬 (Hack 社製)	
NO _x (NO、NO ₂)	・亜硝酸試薬 (Hack 社製)	507 nm

5) アンモニアガスの捕集溶液および捕集枚数の検討

アンモニアガスの捕集方法を検討した。前述したように捕集方法は、フィルターパック法を用いた。アンモニアガスの捕集溶液は、ガスの測定方法³³⁾を参考とし、リン酸5 % (特級試薬、関東化学社製) + グリセリン2 % (特級試薬、和光純薬工業社製) を基準とした。そのことを踏まえ、アンモニアガスを捕集するためのフィルターに塗布する捕集用溶液と捕集の際に必要なフィルター枚数の検討を行った。前述したように捕集溶液の検討実験では、「リン酸5 %」、「リン酸5 %+グリセリン2 %」、「リン酸5 %+グリセリン10 %」の3 つに条件にて実験を行った。実験方法は、テドラーバッグ (10 L) にアンモニアガス (5 mL (5.03 %、太陽日酸社製)) および窒素ガス (G3グレード、太陽日酸社製) を入れた。よく攪拌した後、条件ごとの溶液を塗布したフィルターを3段のフィルターホルダーに設置しミニポンプ (MP-Σ300N、柴田科学社製) で1 L/minの流速で捕集した。確認のため、フィルターを通した後のガスをテドラーバッグにて回収をして、検知管にてアンモニアガスの有無の確認を行った。

捕集枚数の実験では、「リン酸5 %」および「リン酸5 %+グリセリン2 %」を捕集溶液とし、捕集する枚数を6枚で行った。実験方法は、テドラーバッグ (10 L) にアンモニアガス (5 mL (5.03 %、太陽日酸社製)) および窒素ガス (G3グレード、太陽日酸社製) を入れた。よく攪拌した後、条件ごとの溶液を塗布したフィルターを6 段のフィルターホルダーに設置しミニポンプ (MP-Σ300N、柴田科学社製) で1 L/minの流速で捕集を行った (図16)。その後、前述したようにアンモニア成分の濃度は紫外可視分光光度計を用いて測定した。

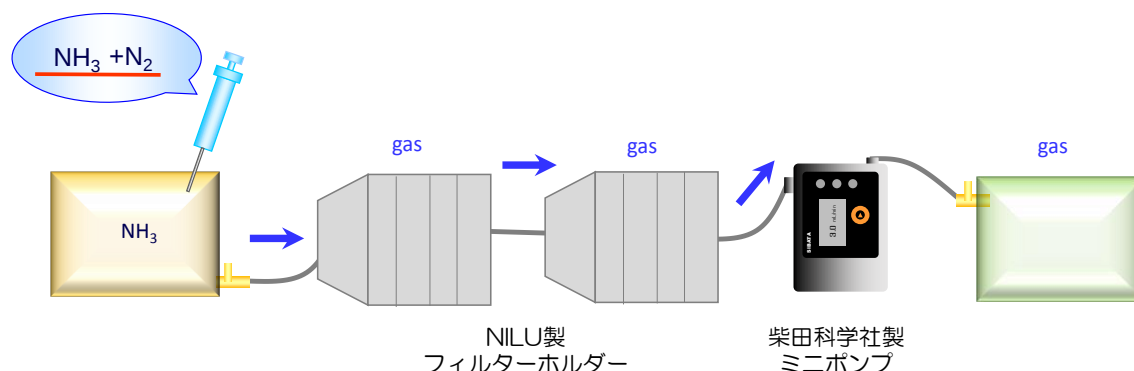


図16 アンモニアガス捕集実験概略図

6) アンモニアガスの温度ごとの窒素安定同位体比の測定

粒子化実験の際の基準となるアンモニアガスの温度ごとの窒素安定同位体比の測定を行った。アンモニアガスとして、アンモニア水を気化させたガスを用いた。気化の手順は、テドラーバッグ（5 L）に窒素ガス（G3グレード、大陽日酸社製）を注入し、そこへシリンジを用いてアンモニア水（3.5%、特級試薬、和光純薬工業社製）0.5 mLを注入した。その後、70 °Cに設定したオーブンで1 時間程度放置し、気化させた。気化の確認は目視にて行い、水滴がないことを確認した。温度ごとの実験は、アンモニア水（3.5 %）0.5 mLを気化させたテドラーバッグを用意し、テドラーバッグ内をよく攪拌した後、-5 °C、5 °C、25 °C、35 °Cで3 時間放置した。その後、リン酸を5 %塗布したフィルターを6 段のフィルターホルダー（ニールフィルターホルダー、東京ダイレック社製）に設置し、ミニポンプ（MP-Σ300N、柴田科学社製）で1 L/minの流速で捕集した。確認のため、フィルターを通した後のガスをテドラーバッグにて回収をして、検知管にてアンモニアガスの有無の確認を行った。その後、フィルターを抽出し、紫外可視分光光度計を用いて濃度を測定し、バイアルへの添加量を決めた。前述したように、脱窒菌法ではアンモニウムイオンは分析することができないため、まずアンモニウムイオンを亜硝酸イオン（もしくは硝酸イオン）に酸化させて、Gas BenchII/IRMSで同位体比を測定した。

7) アンモニアガスの粒子化実験の反応時間の検証

アンモニアガスが粒子化する際の反応時間による窒素安定同位体比の違いを調べた。アンモニアガスとして、アンモニア水を気化したアンモニアガスを用いた。気化の手順は、前述した方法と同様に、テドラーバッグ（5 L）に窒素ガス（G3グレード、大陽日酸社製）を注入し、そこへシリンジを用いてアンモニア水（3.5 %、特級試薬、和光純薬工業社製）0.5 mLを注入した。その後、70 °Cに設定したオーブンで1 時間程度放置し、気化させた。核粒子は、塩化ナトリウム（0.8 g/L）と核凝縮型単分散粒子発生機（MAG 3000、PALAS社製）を用いて生成した。その後、気化後のアンモニアガスは、粒子が封入されたテドラーバッグへ注入した。粒子化反応は、テドラーバッグ内をよく攪拌した後、5 °Cで、10 分、30 分、2 時間、3 時間、4 時間、72 時間（n = 1）で反応させた。捕集は、先頭に石英繊維フィルター（2500QAT-UP 直径47 mm、

Pall社製)をインパクター(NWPS-35H型、柴田科学社製)に設置したものを取り付けて、リン酸5%を塗布したフィルターを3段のフィルターホルダー(ニールフィルターホルダー、東京ダイレック社製)に設置したものを接続し、ミニポンプ(MP-Σ300N、柴田科学社製)を用いて3 L/minの流速で吸引した(図17、18)。その後、フィルターを抽出し、紫外可視分光光度計を用いて濃度を測定し、バイアルへの添加量を決めた。前述したように、脱窒菌法ではアンモニウムイオンは分析することができないため、まずアンモニウムイオンを亜硝酸イオン(もしくは硝酸イオン)に酸化させて、Gas BenchII/IRMSで同位体比を測定した。

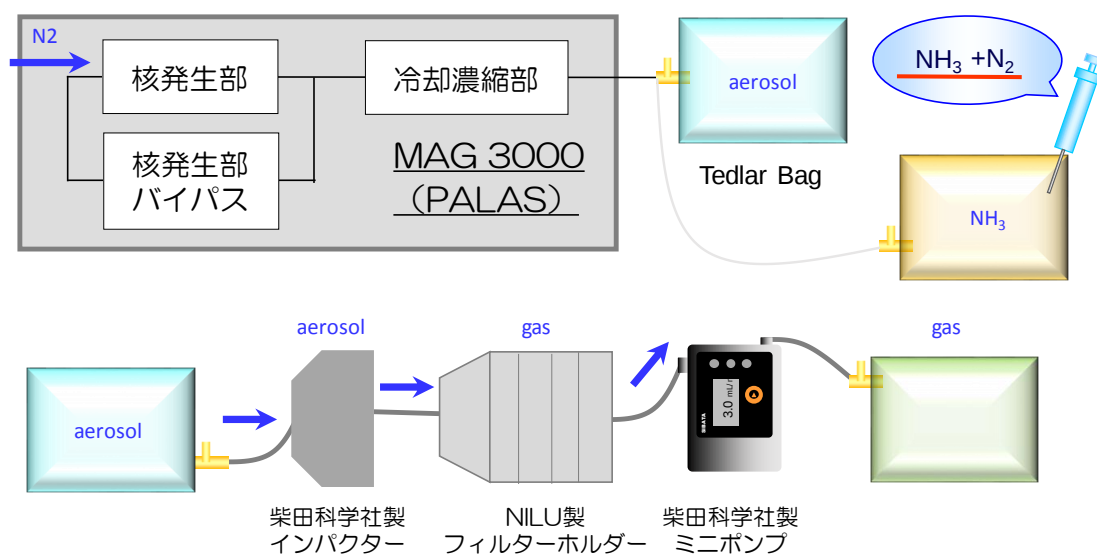


図17 アンモニアガス粒子化実験概略図



図18 アンモニアガス粒子化実験の様子

8) アンモニアガスの温度変化における粒子化分別係数の算出

様々な温度の条件下でアンモニアガスが粒子化した際の同位体の分別係数（粒子化分別係数）を求めた。アンモニアガスとして、アンモニア水の気化したアンモニアガスを用いた。気化の手順は、前述した方法と同様に、テドラーバッグ（5 L）に窒素ガス（G3グレード、大陽日酸社製）を注入し、そこへシリンジを用いてアンモニア水（3.5 %、特級試薬、和光純薬工業社製）0.5 mLを注入した。その後、70 °Cに設定したオープンで1 時間程度放置し、気化させた。核粒子は、塩化ナトリウム（0.8 g/L）と核凝縮型単分散粒子発生機（MAG 3000、PALAS社製）を用いて生成した。その後、気化後のアンモニアガスは、粒子が封入されたテドラーバッグへ注入した。

粒子化反応は、テドラーバッグ内をよく攪拌した後、-5 °C、5 °C、25 °C、35 °Cで3 時間反応させた。捕集は、先頭に石英繊維フィルター（2500QAT-UP 直径47 mm、Pall社製）をインパクター（NWPS-35H型、柴田科学社製）に設置したものを取り付けて、リン酸5 %を塗布したフィルターを3 段のフィルターホルダー（ニールフィルターホルダー、東京ダイレック社製）に設置したものを接続し、ミニポンプ（MP-Σ300N、柴田科学社製）を用いて3 L/minの流速で吸引した。その後、フィルターを抽出し、紫外可視分光光度計を用いて濃度を測定し、バイアルへの添加量を決めた。前述したように、脱窒菌法ではアンモニウムイオンは分析することができないため、まずアンモニウムイオンを亜硝酸イオン（もしくは硝酸イオン）に酸化させて、Gas BenchII/IRMSで同位体比を測定した。

9) 硝酸ガスの捕集溶液および捕集枚数の検討

硝酸ガスの捕集方法を検討した。前述したように捕集方法は、フィルターパック法を用いた。硝酸ガスの捕集溶液は、野口ら（2007）³⁴⁾より、炭酸カリウム6 %（特級試薬、関東化学社製）+ グリセリン2 %（特級試薬、和光純薬工業社製）を基準とし、そのことを踏まえ、硝酸ガスを捕集するためのフィルターに塗布する溶液とフィルターの枚数の検討を行った。

実験方法は、テドラーバッグ（5 L）に窒素ガス（G3グレード、大陽日酸社製）を入れ、そこへシリンジを用いて硝酸63 %（特級試薬、和光純薬工業）0.5 mLを注入した。その後、70 °Cに設定したオープンで1 時間程度放置し、気化をさせた。気化の確認は目視にて行い、水滴がないことを確認した。よく攪拌した後、炭酸カリウム6 %（特級試薬、関東化学社製）+ グリセリン2 %（特級試薬、和光純薬工業社製）溶液を塗布したフィルターを3 段および6 段のフィルターホルダーに設置しミニポンプ（MP-Σ300N、柴田科学社製）で、1 L/minの流速で捕集した（図19）。その後、前述したように硝酸成分の濃度は紫外可視分光光度計を用いて測定した。

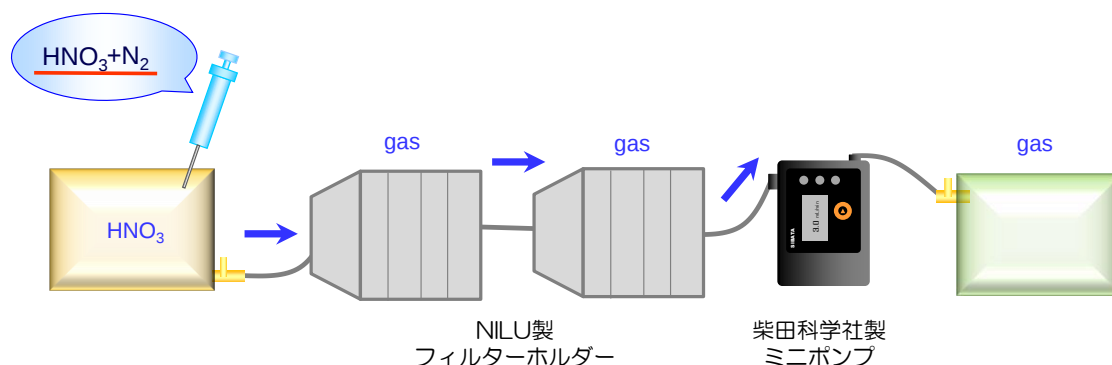


図19 硝酸ガス捕集実験概略図

10) 硝酸ガスの温度ごとの窒素、酸素安定同位体比の測定

粒子化実験の際の基準となる硝酸ガスの温度ごとの窒素、酸素安定同位体比の測定を行った。硝酸ガスは、硝酸を一度気化させてからガス成分として用いた。気化の手順は、テドラーバッグ（5 L）に窒素ガス（G3グレード、大陽日酸社製）を入れ、そこへシリンジを用いて硝酸63 %（特級試薬、和光純薬工業）0.5 mLを注入した。その後、70 °Cに設定したオーブンで1 時間程度放置し、気化をさせた。気化の確認は目視にて行い、水滴がないことを確認した。

温度ごとの実験は、硝酸（63 %）0.5 mLを気化させたテドラーバッグを用意し、テドラーバッグ内をよく攪拌した後、-5 °C、5 °C、25 °C、35 °Cで3 時間放置した。炭酸カリウム6 %（特級試薬、関東化学社製）+ グリセリン2 %（特級試薬、和光純薬工業社製）塗布フィルターを6 段のフィルターホルダー（ニールフィルターホルダー、東京ダイレック社製）に設置し、ミニポンプ（MP-Σ300N、柴田科学社製）で1 L/minの流速で捕集を行った。確認のため、フィルターを通した後のガスをテドラーバッグにて回収をして、検知管にて硝酸ガスの有無の確認を行った。その後、フィルターを抽出し、紫外可視分光光度計を用いて濃度を測定し、バイアルへの添加量を決めて、Gas BenchII/IRMSで同位体比を測定した。

11) 硝酸ガスの粒子化実験の反応時間の検証

硝酸ガスが粒子化する際の反応時間による窒素、酸素安定同位体比の違いを調べた。硝酸ガスとして、硝酸を気化させた硝酸ガスを用いた。気化の手順は、テドラーバッグ（5L）に窒素ガス（G3グレード、大陽日酸社製）を入れ、そこへシリンジを用いて硝酸63 %（特級試薬、和光純薬工業）0.5 mLを注入した。その後、70 °Cに設定したオーブンで1 時間程度放置し、気化をさせた。核粒子は、塩化ナトリウム（300 g/L）と核凝縮型単分散粒子発生機（MAG 3000、PALAS社製）を用いて生成した。その後、気化後の硝酸ガスが、粒子が封入されたテドラーバッグへと注入した。気化の確認は目視にて行い、水滴がないことを確認した。粒子化反応は、テドラーバッグ内をよく攪拌した後、25 °Cで、10 分、30 分、2 時間、3 時間、4 時間で反応させた。捕集は、先頭に石英繊維フィルター（2500QAT-UP 直径47 mm、Pall社製）をインパクター

(NWPS-35H型、柴田科学社製) に設置したものを取り付けて、炭酸カリウム6 % (特級試薬、関東化学社製) + グリセリン2 % (特級試薬、和光純薬工業社製) 溶液を塗布したフィルターを3段のフィルターホルダー (ニールフィルターホルダー、東京ダイレック社製) に設置したものを接続し、ミニポンプ (MP-Σ300N、柴田科学社製) を用いて3 L/minの流速で吸引した (図20)。その後、フィルターを抽出し、紫外可視分光光度計を用いて濃度を測定し、バイアルへの添加量を決めて、Gas BenchII/IRMSで同位体比を測定した。

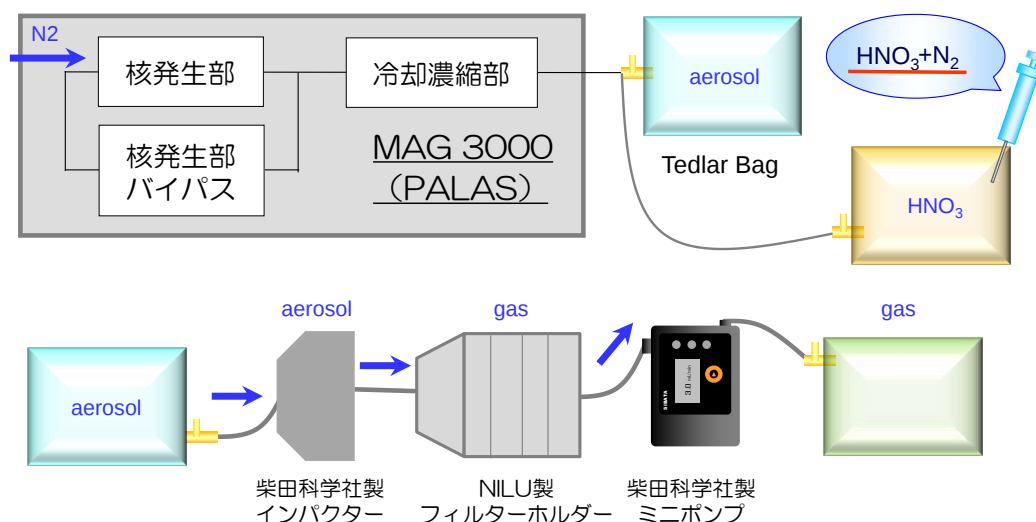


図20 硝酸ガス粒子化実験概略図

12) 硝酸ガスの温度変化における粒子化分別係数の算出

様々な温度の条件下で硝酸ガスが粒子化した際の同位体の分別係数 (粒子化分別係数) を求めた。硝酸ガスとして、硝酸を気化した硝酸ガスを用いた。気化の手順は、前述した方法と同様に、テドラーバッグ (5 L) に窒素ガス (G3グレード、大陽日酸社製) を注入し、そこへシリンジを用いて硝酸 (5.5 %、特級試薬、和光純薬工業社製) 0.5 mLを注入した。その後、70 °Cに設定したオーブンで1 時間程度放置し、気化させた。核粒子として塩化ナトリウム (300 g/L) として、核凝縮型単分散粒子発生機 (MAG 3000、PALAS社製) を用いて生成した。その後、気化後の硝酸ガスが、粒子が封入されたテドラーバッグへと注入した。粒子化反応は、テドラーバッグ内をよく攪拌した後、-5 °C、5 °C、25 °C、35 °Cで3 時間反応させた。捕集は、先頭に石英繊維フィルター (2500QAT-UP 直径47 mm、Pall社製) をインパクター (NWPS-35H型、柴田科学社製) に設置したものを取り付けて、炭酸カリウム6 % (特級試薬、関東化学社製) + グリセリン2 % (特級試薬、和光純薬工業社製) 溶液を塗布したフィルターを3 段のフィルターホルダー (ニールフィルターホルダー、東京ダイレック社製) に設置したものを接続し、ミニポンプ (MP-Σ300N、柴田科学社製) を用いて3 L/minの流速で吸引した。その後、フィルターを抽出し、紫外可視分光光度計を用いて濃度を測定し、バイアルへの添加量を決めて、Gas BenchII/IRMSで同位体比を測定した。

(3) パッシブサンプラーにおけるサンプリング

ガス状成分として、二酸化窒素、アンモニアガスのサンプリングを短期暴露用拡散型のパッシブサンプラー（小川照会社製）を用いて行った。フィルターは、二酸化窒素、アンモニアガスは、それぞれ、トリエタノールアミン、クエン酸の含浸ろ紙であった。短期暴露用拡散型のパッシブサンプラーは、直径2 cm、長さ3 cm、重さが約10 g と小型軽量であるジュラコン製の短円筒型で、両側に25 個の細孔を有するディフューザーがあり、その中にステンレスの金網が2 枚あり、この2 枚の間に採取したい粒子を吸着するフィルターを設置する構造になっている（図21上）。そのため、一つのサンプラーで測定対象とするガス状成分を2 物質同時に測定できるが、本研究では必要量を確保するために両側に同じフィルターを設置して、2 週間ほどフィルターにガス状成分を吸着させた。また、パッシブサンプラーの原理・構造としては、サンプラーに目的の汚染物質を捕集するフィルターを装着すれば、大気側が高濃度、フィルター面が低濃度となり、その間でFickの第一法則に従う分子拡散が行われ、汚染物質はフィルターに捕集されていく構造である。

サンプリング地点としては、秋田県由利本荘市にある秋田県立大学大学院棟駐車場、学部棟駐車場の2 地点で行った（図21下）。サンプリング地点の特徴を挙げれば以下の通りである。秋田県立大学は西に5 kmほどに日本海があり、周辺には特徴的な工場などはなく、都心のように居住者の影響を出来る限り受けない、また冬季から春季における特徴を明瞭にするため日本海側に出来る限り近いことが挙げられる。駐車場は10 m近くに50 台ほどの車が駐車しており、駐輪場近くには車はない場所であった。また、期間は2016 年 2 月 15 日から2017 年 2 月 13 日 で実施した。

また、窒素酸化物（NO_x）、二酸化窒素（NO₂）を精度よく測定するために、どの程度の捕集期間が必要なのか以下の計算をした。まず、NO_x、NO₂のパッシブサンプラーの濃度測定式は以下の2つの式（2）、式（3）より算出できる³⁵⁾。

$$\text{NO}_2(\text{ppbv}) = \alpha_{\text{NO}_2} \times W_{\text{NO}_2} / t \quad (2)$$

$$\text{NO}(\text{ppbv}) = \alpha_{\text{NO}} \times (W_{\text{NO}_x} - W_{\text{NO}_2}) / t \quad (3)$$

ただし、W_{NO₂}、W_{NO_x}はNO₂、NO_x捕集エレメントに捕集されたそれぞれのNO₂量（ng）およびNO_x量（ng）、α_{NO₂}、α_{NO_x}は大気中濃度（ppbv）に換算する係数（ppbv・min/ng）は捕集エレメントの暴露時間（min）である。換算係数であるα_{NO₂}、α_{NO_x}は以下の2つの式（4）、式（5）より、温度と湿度のデータを使って算出される。

$$\alpha_{\text{NO}} = 4.746 \times (4781.3 - [T]) / (474.2 - [P] \times [RH]) \quad (4)$$

$$\alpha_{\text{NO}_2} = 1.050 \times 10^6 / (44.6 + [T]) / (206.4 + [P] \times [RH]) \quad (5)$$

$$P = (2P_N / (P_T + P_N))^{2/3} \quad (6)$$

ただし、RHは相対湿度（%）、Tは温度（°C）、Pは水蒸気圧補正係数、 P_N は20 °Cにおける飽和水蒸気圧（17.535 mmHg）、 P_T （[T°Cの飽和水蒸気圧、mmHg]×[T°Cの相対湿度、%]/100）は測定時の平均気温T°Cにおける水蒸気圧（mmHg）である。また、 P_T はアントワンの式より、温度を使うと算出できる。

ここで、例として、NO（ppb）、NO₂（ppb）を千葉県の月別データを使い（秋田県のデータが入手できなかったので便宜的に千葉県のデータを利用した）、また温度、湿度を秋田県の月別データを使って、3 日間の吸着時間とし、フィルターを50 mLのミリQ水にて抽出し、抽出液1 mLをサンプルとして導入すると、NO₂、NO_xは、それぞれ、0.6 nmolN ～ 2.5 nmolN、1.3 nmolN ～ 3.3 nmolNとなる。1 週間とすると、1.7 nmolN ～ 5.7 nmolN、3.0 nmolN ～ 7.7 nmolNとなり、小川サンプラーのフィルターは左右2 か所設置可能であり、2 週間、4 枚を使うとすると、十分な絶対量を確保できることがわかった。

そこで、実験手順は2 週間ほど捕集したフィルターを4 枚集め、40 mLミリQ水に溶かして、超音波にかけて30 分間抽出を行った。抽出を行った後に試薬を加えて反応させ、紫外可視分光光度計を用いて二酸化窒素は硝酸態窒素として波長507 nmの条件で、アンモニアは655 nmの条件で分析を行った。さらに濃度の結果から、脱窒菌法で測定するために必要なサンプル量を導出し、サンプル瓶に入れて脱窒を行った。アンモニアサンプルのみ、吸光度計の測定後にアンモニウムイオンから亜硝酸イオンに変えて分析を行った。

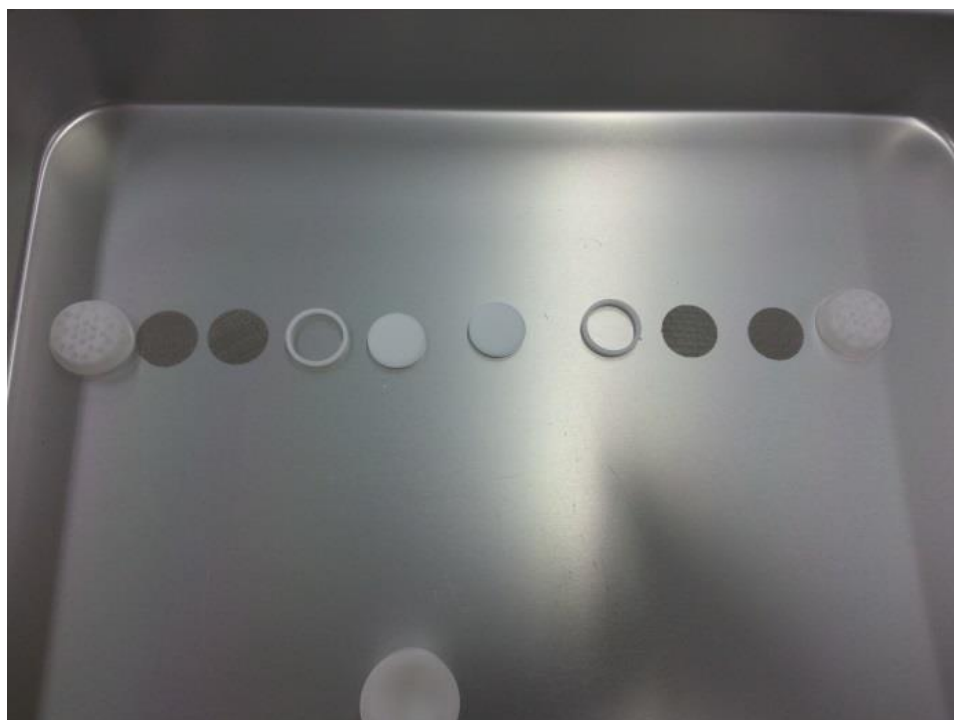


図21 小川サンプラーの分解（上）、サンプリング風景（下）

(4) 混合モデルを用いた発生源解析

近年、混合モデルに安定同位体比を導入した同位体混合モデルという統計的な解析手法が開発された。これにより、同位体を使った発生源寄与率推定が可能となった。現在では、複数のモデルが開発されており、一般的に知られているIso Source²⁶⁾やSIAR²⁷⁾ (Stable Isotope Analysis in R、SIAR)、MixSIR²⁸⁾などが挙げられ、この他にもさまざまなモデルが開発されている。本研究では、安定同位体比や係数の値のばらつきを考慮し寄与率を推定することができるSIARを解析に用いた。SIARに、複数の発生源の数値および測定結果を用いた。

測定結果は粒子化しているため、発生源のガスの値とは異なる。そこで、まず本研究にて算出した粒子化分別係数を用いて、粒子の値をガスの値へと補正を行い、その補正後の値を導入することとした。

1) 解析に用いた粒子状物質のサンプリングについて

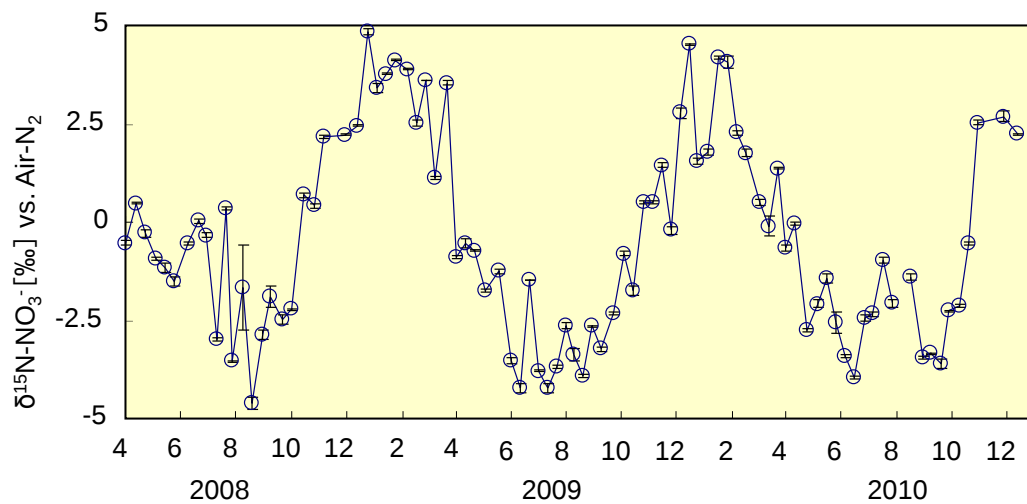
粒子中の硝酸イオンの結果は、以前、秋田県由利本荘市にある秋田県立大学にて行った結果を用いた¹⁰⁾。サンプリング地点は、秋田県立大学本荘キャンパステニスコート付近であった。秋田県立大学は西に5 kmほどに日本海があり、また周辺には特徴的な工場などはない地点である。粒子は、粒径の大きいSPM（粒径が10 μm 以上を100 %カット）であり、ハイボリュームエアサンプラー（柴田科学社製、HVS-1000、以下はHVS）にて、吸引速度は1000 L/minで捕集した。サンプリング期間は、2008 年 4 月 3 日 ~ 2010 年 12 月 14 日の間（捕集期間は5 日から15 日）で、サンプル数は合計89 個であった。また捕集フィルターには吸湿性が低いグラスファイバーフィルター（ADVANTEC社製、GB-100R）が使われた。

2) 寄与率の算出方法

温度とガスから粒子への分別係数の関係は、 $y = 0.13x + 1.05$ ($R^2 = 0.87$) (y : 粒子化分別係数、 x : 温度) となり（この関係については、後述する）、これらの式から、粒子中の硝酸イオンを硝酸ガスへと変換を行った。硝酸ガスから窒素酸化物への窒素同位体比の同位体分別はないものと仮定した。窒素酸化物の発生源の数値としては、既往の研究であるHeaton (1990)⁸⁾、Li and Wang (2008)¹³⁾を用いた（表2）。また、それぞれの発生源を自然由来、燃焼由来、自動車排ガスの3種類に区分した。一般環境中の測定値は、季節ごと（春：3 月 ~ 5 月、夏：6 月 ~ 8 月、秋：9 月 ~ 11 月、冬：12 月 ~ 2 月）に区分し、それぞれ寄与率の算出を行い、発生源の解析を行った。

表2 NO_xガス発生源の窒素安定同位体比[‰]

燃焼由来	自動車排ガス	自然由来	
Heaton (1990) ⁸⁾	Heaton (1990) ⁸⁾	Li and Wang (2008) ¹³⁾	
燃焼NO _x (ボイラー)	燃焼NO _x (車)	尿素NO	肥料NO
5.2	-2.0	-28.0	-19.8
13.0	-7.0	-29.0	-23.0
9.0	-11.0	-31.0	-24.0
12.0	-12.0	-31.0	-24.5
8.0	-13.0	-28.5	-25.2
6.0	-13.2	-37.0	-29.0
	-11.5	-42.0	-37.0
	-7.3	-43.5	-48.6
	-15.2	-48.9	
	-8.9		
Ave.	8.9	-32.4	
S.D.	3.1	9.0	

図22 SPM中硝酸イオンの窒素安定同位体比¹⁰⁾

4. 結果及び考察

(1) 脱窒菌法による分析とアンモニアの反応実験

1) 脱窒菌法による分析方法の検討と試薬を用いた検証

脱窒菌法の分析方法に関しては、開発者の一人であるスタンフォード大学のK. Casciotti准教授の研究室へ技術習得のため短期留学し、また装置に関しては様々な改良も試みた。改良後の装置を使って秋田県立大学にて測定した硝酸カリウム及び硝酸ナトリウムの $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{18}\text{O}$ をスタンフォード大学のK.Casciotti研究室やEA/IRMSの測定結果と比較/検証を行った(表3、4)。一般的に、窒素安定同位体比の精度は0.2 ‰、酸素安定同位体比の精度が0.5‰以下なら高精度分析であるといえるが、窒素安定同位体比は0.07 ‰ ~ 0.24 ‰、酸素安定同位体比は0.15 ‰ ~ 0.27 ‰と高精度分析で測定が可能であった。また、スタンフォード大学とのこの結果を比較したところ、今回測定した結果で窒素安定同位体比の誤差は0.2 ‰以下、酸素安定同位体比の誤差は0.5 ‰以内だったことから、高確度な分析が行えたと考えられた。また、EA/IRMSの測定結果と比較しても問題なく、高確度に分析が可能であることがわかった。これらの結果より脱窒菌法を用いた窒素・酸素安定同位体比分析はともに高精度かつ高確度分析が可能であると考えられた。

表3 秋田県立大学とスタンフォード大学との硝酸中の $\delta^{15}\text{N}$ の検証 (‰)

	Akita Pref. Univ.		EA		Stanford Univ.	
	$\delta^{15}\text{N}$	S.D.	$\delta^{15}\text{N}$	S.D.	$\delta^{15}\text{N}$	S.D.
KNO ₃ (Wako)	0.45	0.08	0.50	0.19	0.45	0.01
KNO ₃ (Wako)	-1.71	0.24	-2.09	0.07	-1.88	0.12
KNO ₃ (Sigma)	-1.68	0.10	-2.44	0.04	-1.81	0.14
KNO ₃ (Kanto)	-1.42	0.15	-2.07	0.17	-1.36	0.08
NaNO ₃ (Sigma)	12.87	0.13	12.54	0.30	13.04	0.16
NaNO ₃ (Kanto)	2.48	0.07	1.94	0.11	2.52	0.14

表4 秋田県立大学とスタンフォード大学との硝酸中の $\delta^{18}\text{O}$ の検証 (‰)

	Akita Pref. Univ.		Stanford Univ.	
	$\delta^{18}\text{O}$	S.D.	$\delta^{18}\text{O}$	S.D.
KNO ₃ (Wako)	24.39	0.15	24.50	0.10
KNO ₃ (Wako)	23.71	0.18	23.73	0.15
KNO ₃ (Sigma)	24.66	0.27	24.63	0.29
KNO ₃ (Kanto)	24.00	0.26	24.19	0.17
NaNO ₃ (Sigma)	23.55	0.16	23.96	0.19
NaNO ₃ (Kanto)	19.72	0.23	19.95	0.19

2) アンモニウムイオンから亜硝酸への反応実験

測定の結果、アンモニア中の $\delta^{15}\text{N}$ の測定結果は0.26 ‰以下となり、高精度な測定結果となった（表5）。また、EA/IRMSとの比較は、 NH_4Cl （Wako Corp.）のみ1.26 ‰と大きな誤差となってしまったものの、その他は0.4 ‰以下となり、ほぼ高確度に分析出来ることがわかった。よって、臭素酸溶液によるアンモニウムイオンを亜硝酸イオンに反応する分析方法は、ほぼ問題なく変換でき、また脱窒菌法にて高精度かつ高確度に分析が可能であることがわかった。

表5 アンモニアイオン中の $\delta^{15}\text{N}$ の分析方法の検証（‰）

	Akita Pref. Univ.	S.D.	EA	S.D.
NH_4Cl （Wako）	0.11	0.17	-1.15	0.15
NH_4Cl （Kanto）	0.76	0.26	0.28	0.08
NH_4Cl （Sigma）	-6.23	0.10	-5.89	0.24
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ （Wako）	-12.0	0.13	-11.1	0.11
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ （Kanto）	-12.6	0.21	-12.9	0.37
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ （Sigma）	-2.67	0.10	-2.10	0.05
$\text{CH}_3\text{COONH}_4$ （Wako）	-2.94	0.18	-1.13	1.24

(2) ガスから粒子への反応の際の粒子化分別係数

1) アンモニアガスの捕集溶液および捕集枚数の検討

塗布する溶液の捕集率は、98 % ~ 100 %、92 % ~ 95 %、87 % ~ 90 %であった（図23）。基準となる溶液は、リン酸5 %・グリセリン2 %であったがグリセリン濃度が高いと、捕集効率が落ちるという結果となった。グリセリンがない実験においても十分な捕集効率だった。また、溶液を塗布した後、6 時間経過したものも作成したが、特に違いはなかった。そのため、リン酸5 %をアンモニアガスの捕集溶液とし、塗布後はすぐに使用することとした。また、フィルター表面にある水分はセルロース濾紙にて十分に取り除くこととした。

フィルター枚数は、フィルターを6 枚で捕集を行ったが、リン酸5 %のフィルターにおいても、1 枚 ~ 3 枚までの捕集率が100 %だった。また、同条件で2 回試験をしたが結果は変わらなかった。そのことから、アンモニアガスの捕集溶液はリン酸5 %で塗布後すぐ使用することとした。

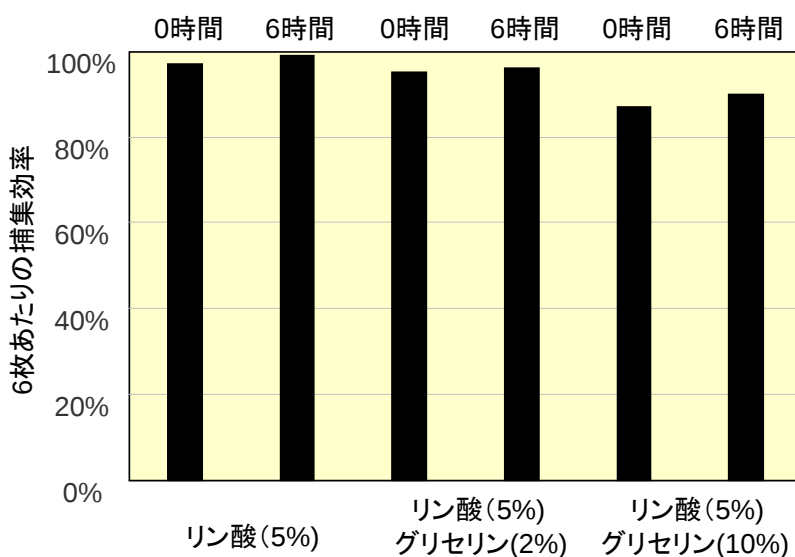


図23 アンモニア捕集溶液の検討実験、塗布後の時間の違い

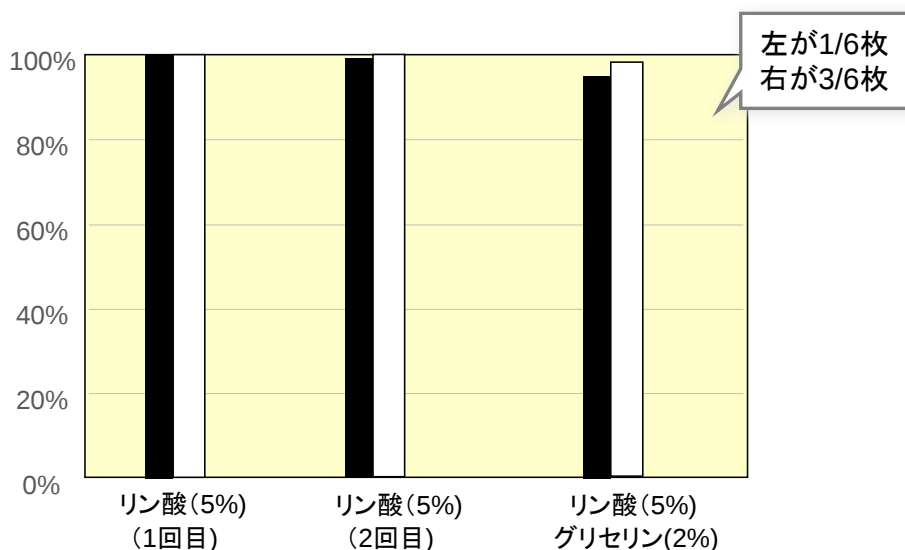


図24 アンモニア捕集フィルターの枚数の違い

2) アンモニアガスの温度ごとの窒素安定同位体比の測定

アンモニア水の窒素安定同位体比は-31 ‰であった。また、アンモニア水を気化したアンモニアガスは、温度条件ごとの窒素安定同位体比はそれぞれ-5 °C: -27.7 ‰、5 °C: -27.9 ‰、25 °C: -29.0 ‰、35 °C: -33.5 ‰であった（図25）。若干、窒素安定同位体比は軽くなる傾向があった。アンモニアガスは、1枚～6枚ですべて捕集をできていることを確認していることからこの値が基準となるアンモニアガスの窒素同位体比であると定めた。

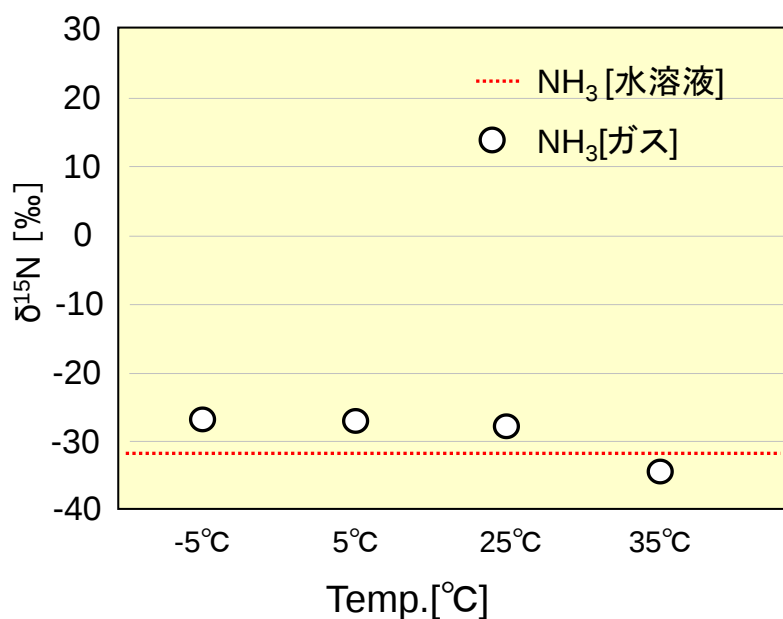


図25 アンモニアガスの温度ごとの窒素安定同位体比

3) アンモニアガスの粒子化実験の反応時間の検証

アンモニア水を気化したアンモニアガスの粒子化分別係数は、反応時間において平均値1.02 ‰～7.86 ‰と全体を通して大きな変化はなく、4200分と長時間反応させても変化が無く、約10分でほぼ粒子化の反応は十分に進んでいると考えられた（図26）。また、時間ごとに値のばらつきは、時間経過とともに値のばらつきが小さくなっていくという傾向もあり、アンモニアガスの粒子化反応は約180分で安定をしていた。そこで本研究では、以後、アンモニアガスの粒子化実験の反応時間は180分とした。また、粒子の窒素安定同位体比と基準となるガスの窒素同位体比とを比べると28.8 ‰～35.9 ‰大きな分別係数であることがわかった。

また、電子天秤での結果においても、測定前と粒子を捕集したフィルターを比較すると、約0.05 mg～0.1 mg程度重くなっていたことから、アンモニア性粒子が生成されていると考えられた。

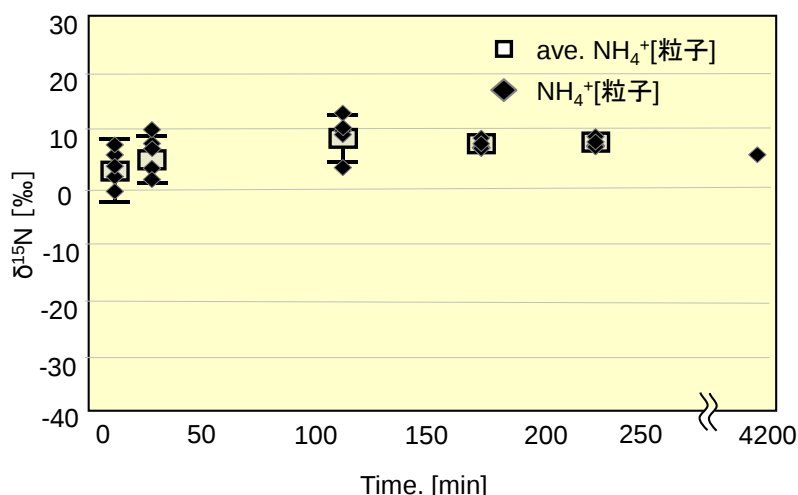


図26 アンモニアガス粒子の時間ごとの窒素同位体比

4) アンモニアガスの温度変化における粒子化分別係数の算出

粒子化後の窒素安定同位体比の値は、6.0 ‰ (−5 °C) ～ 13.5 ‰ (35 °C) と温度が高くなるほど重くなった (図27)。この結果より、アンモニアガスの温度ごとの同位体比と比較し、粒子化分別係数を算出した。粒子化分別係数は、33 ‰ (−5 °C)、34 ‰ (5 °C)、40 ‰ (25 °C)、47 ‰ (35 °C) であった。粒子化分別は温度が高い程係数が大きくなることが分かった。これにより、国内外で初めて、実際に粒子を生成した実測値からアンモニアガスの粒子化分別係数を算出することができた。

これほど大きな分別係数になった理由としては、以下のように考えられる。一般的に、 ^{15}N を含む分子は ^{14}N を含む分子よりも結合力が強く安定である。そのため、アンモニアからアンモニウムイオンが生成する反応では、 ^{14}N を含んだ $^{14}\text{NH}_3$ が優先的に反応し、粒子を形成すると考えられる。この場合、 NH_4^+ エアロゾルは元の NH_3 ガスよりも軽い同位体比をとる (同位体は非平衡)。しかし、時間が経過し、ガスー粒子間で反応が平衡反応に達した場合は (恐らく、瞬間的に平衡反応に達する)、 ^{15}N を含んだ $^{15}\text{NH}_4^+$ が粒子中に取り残され、同位体比は急激に増加すると考えられる。そして、平衡反応も時間が経過すると同位体平衡に達すると考えられる。実際に、先ほどの結果を見ても、約10分で平衡反応を示していた。

また、Heatonら (1997) ³⁶⁾は閉鎖系でアンモニアガスをフィルター上の硫酸イオンに吸着させる実験により、同位体平衡までに+33 ‰重くなることを示している。本研究の結果は、Heatonら (1997) ³⁶⁾が模擬的に行ったデータとそれほど大きく変わらないことがわかった。また気温だけ考えれば、冬季よりも、夏季において、粒子中の $\delta^{15}\text{N}$ -アンモニウムイオンは5 ‰程度重くなることが予想される。また、さらに実環境の結果では、Hayasakaら (2004) ⁴⁾は、 $\delta^{15}\text{N}$ - NH_4^+ は元の $\delta^{15}\text{N}$ - NH_3 よりも+30.4 ‰重くなると報告している。また、著者の最近の実測の結果でも+33 ‰となっており¹¹⁾、いずれも大きな同位体効果であり、本研究の結果を支持している結果となった。

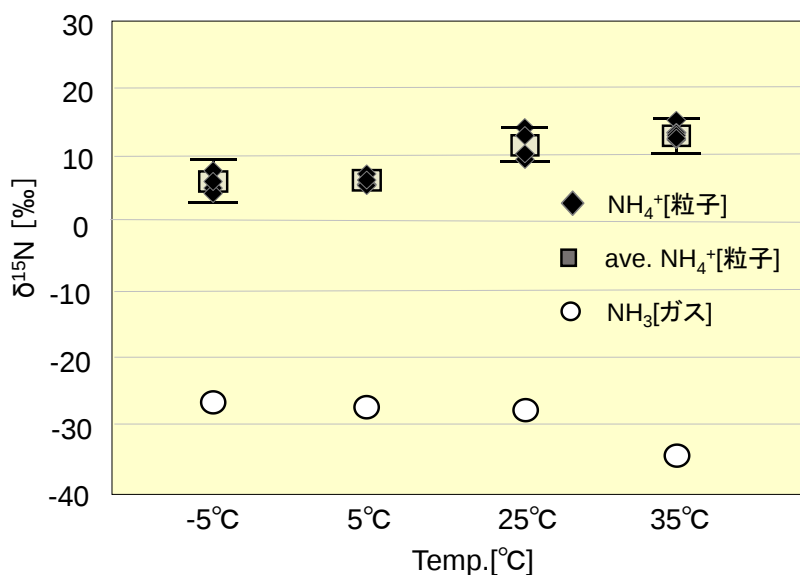


図27 アンモニアガス粒子の窒素同位体比と粒子化分別係数

5) 硝酸ガスの捕集溶液および捕集枚数の検討

1枚では、73%の捕集率であったが、3枚目まででは90%の捕集率と十分な効率であった（図28）。よって、炭酸カリウム（6%）・グリセリン（2%）を使用することにし、フィルター上の水分をセルロース濾紙にてふき取ったのちすぐに使用した。

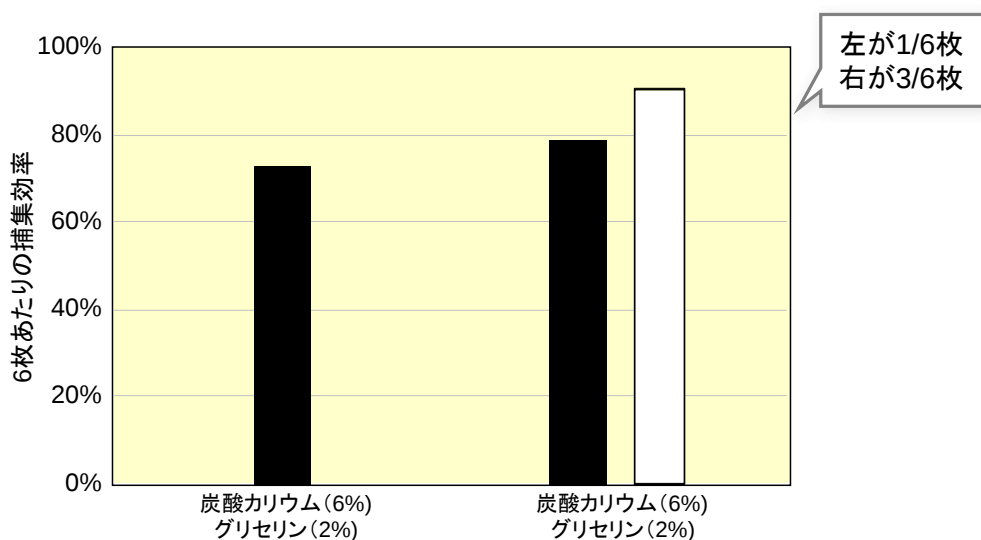


図28 硝酸ガス捕集溶液の検証

6) 硝酸ガスの温度ごとの窒素・酸素安定同位体比の測定

硝酸ガスは、水溶液の値が-1.4 ‰、ガスの温度条件ごとの同位体比はそれぞれ-5 °C: -7.9 ‰、5 °C: -5.5 ‰、25 °C: -1.5 ‰、35 °C: -2.1 ‰であった（図29）。全体を通して温度が上昇するにつれ同位体比が重くなるという傾向があった。硝酸ガスは、1枚～6枚ですべて捕集をできていることを確認していることから、この値が基準となるアンモニアガスの窒素同位体比であると定めた。

また、酸素安定同位体比の値は、水溶液の値が21.7 ‰、ガスの温度条件ごとの同位体比はそれぞれ-5 °C: 17.5 ‰、5 °C: 25.6 ‰、25 °C: 37.7 ‰、35 °C: 37.8 ‰であった。窒素安定同位体比同様に、温度が上昇するにつれ同位体比が重くなった。しかし、酸素安定同位体比は測定ごとに値のばらつきが目立つという結果となった。このことから、本測定方法では酸素安定同位体比の比較を行うことが困難であると考え、以下からは酸素安定同位体比の議論は省略する（パッシブサンプラーの実測値のみ酸素安定同位体比の議論は行う）。

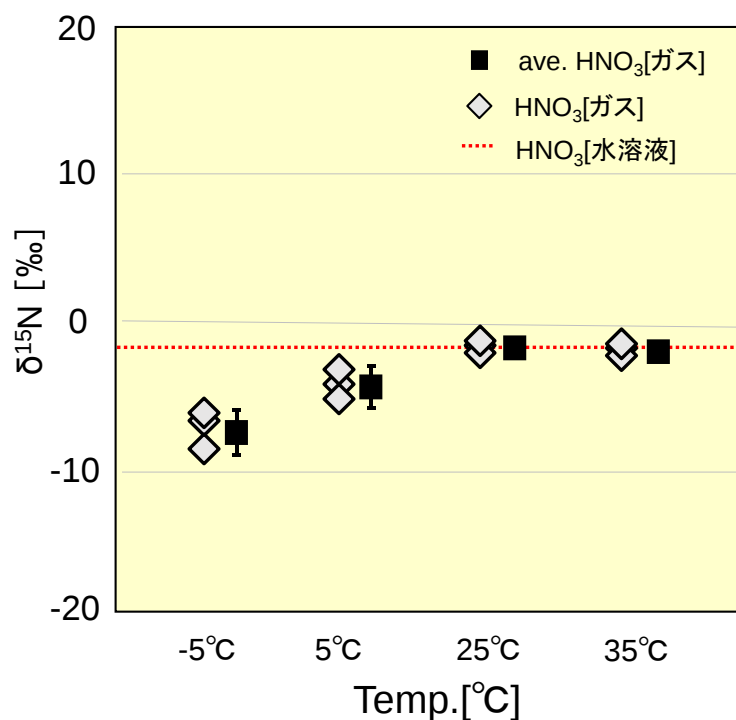


図29 硝酸ガスの温度ごとの窒素安定同位体比の測定

7) 硝酸ガスの粒子化実験における反応時間の検証

硝酸ガスの粒子化分別係数は、反応時間 10 分の結果は平均値が 2.6 ‰であり、その他の時間は -2.3 ‰ ~ 0.4 ‰と安定していることがわかった。そのため、30 分を経過すれば、ほぼ粒子化の反応は十分に進んでいると考えられた（図 30）。そこで本研究では、実験のし易さ等を考慮して、以後、硝酸ガスの粒子化実験の反応時間は 180 分とした。また、粒子の窒素安定同位体比と基準となるガスの窒素同位体比とを比べると 0.7 ‰ ~ 4.1 ‰の差があるという結果となった。また、粒子を捕集したフィルターが測定前と比べ約 0.05 mg ~ 0.1 mg 程度重くなっていた。これらの窒素同位体比の観点からと質量の観点から考えても硝酸性粒子が生成されていると考えられた。

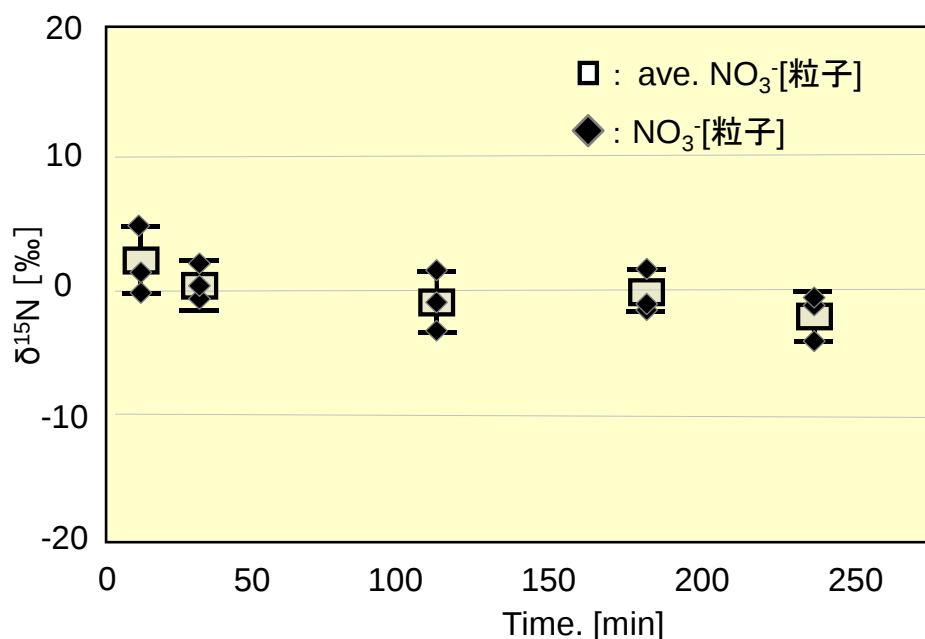


図30 硝酸粒子の時間ごとの窒素同位体比

8) 硝酸ガスの温度変化における粒子化分別係数の算出

粒子化後の窒素安定同位体比の値は $-2.1\text{‰} \sim 4.2\text{‰}$ と温度が高くなるほど重くなった(図31)。硝酸ガスの温度ごとの同位体比と比較し粒子化分別係数を算出すると、粒子化分別係数は、 5.9‰ (-5℃)、 2.0‰ (5℃)、 3.5‰ (25℃)、 6.3‰ (35℃)であった。粒子化分別は、温度が高い程、分別係数が大きくなることが分かった。これにより、初めて硝酸の粒子化分別係数を算出することができた。また、同じ地点での硝酸ガスと粒子中の硝酸イオンの窒素安定同位体比の変化は、約 $+5\text{‰}$ との結果もあり¹¹⁾、本研究の分別係数は妥当な値であることが推察された。

しかし、本実験の -5℃ の条件においては、実験の際に水滴が見られ、再度、同位体分別を起こしている恐れもあり、議論を行うことができる値であるかの確証がなかった。そのため、それらは、参考値扱いとした。

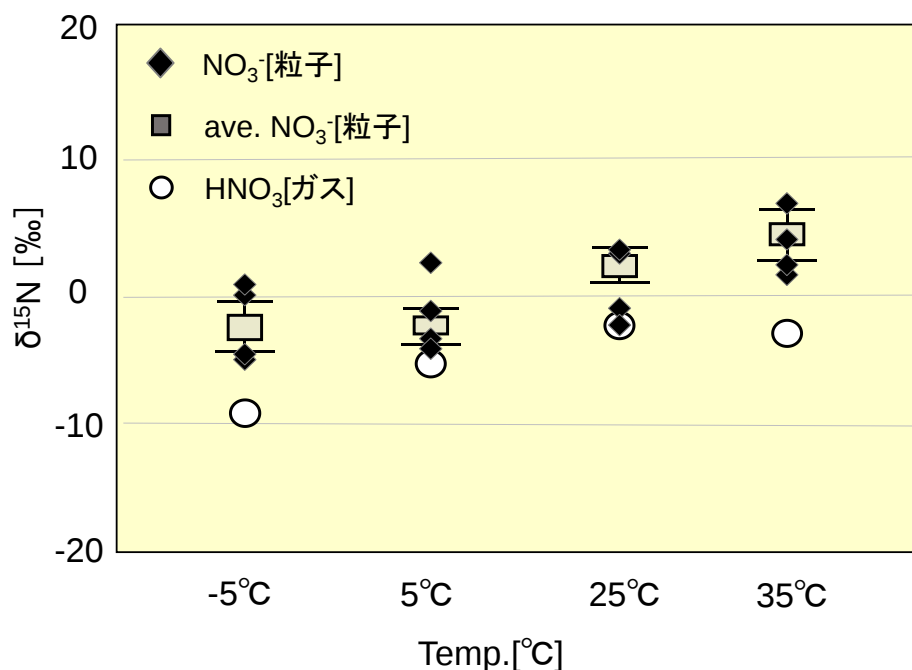


図31 硝酸ガス粒子の窒素同位体比と粒子化分別係数

(3) パッシブサンプラーにおけるサンプリング

フィルター4枚かつ2週間の捕集期間において、すべての地点かつ時間において、亜酸化窒素のピークエリアは10 Vs以上確保することが出来、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 共に分析が可能であった。アンモニアの窒素安定同位体比は、年間を通して駐輪場（ $-1.5\text{‰} \sim -15.5\text{‰}$ 、平均 $-10.3 \pm 3.0\text{‰}$ ）、駐車場（ $-8.2\text{‰} \sim -17.0\text{‰}$ 、平均 $-11.9 \pm 2.5\text{‰}$ ）の値を推移しており、2地点間での大きな変化はなかった（図32）。また、駐輪場においては、若干の季節傾向が見られた（春： -11.4‰ 、夏： -13.7‰ 、秋： -11.8‰ 、冬： -10.6‰ ）。また、濃度は駐輪場（ $0.1\text{ ppbv} \sim 40.4\text{ ppbv}$ ）、駐車場（ $0.3\text{ ppbv} \sim 76.7\text{ ppbv}$ ）であった。Felixら（2017）³⁷⁾によると、2009年～2010年にかけて、米国東部から中部における9地点のアンモニアの窒素安定同位体比は、 $-42.4\text{‰} \sim +7.1\text{‰}$ 、平均 $-15.1 \pm 9.7\text{‰}$ となっており、本研究の結果に比べ、幅も広く、平均値は若干軽い傾向があった。

二酸化窒素中の窒素安定同位体比は、年間を通して駐輪場（ $-6.1\text{‰} \sim -12.0\text{‰}$ 、平均 $-9.5 \pm 1.0\text{‰}$ ）、駐車場（ $-5.6\text{‰} \sim -10.2\text{‰}$ 、平均 $-7.9 \pm 1.1\text{‰}$ ）の値を推移しており、2地点での大きな変化はなかった（図33）。一方、酸素安定同位体比は、駐輪場（ $-14.1\text{‰} \sim 16.7\text{‰}$ 、平均 $-0.5 \pm 9.3\text{‰}$ ）、駐車場（ $-13.7\text{‰} \sim 17.8\text{‰}$ 、平均 $0.0 \pm 7.5\text{‰}$ ）となり、窒素安定同位体比と比べて大きな幅を持っていることがわかった（図34）。また、濃度は駐輪場（ $2.0\text{ ppbv} \sim 107.2\text{ ppbv}$ ）、駐車場（ $11.2\text{ ppbv} \sim 143.4\text{ ppbv}$ ）であり非常に低い濃度であった。また、季節傾向は、窒素においては若干（ $\sim 1.5\text{‰}$ ）、酸素においては約10‰程度も冬季に重くなる明瞭な傾向があった。

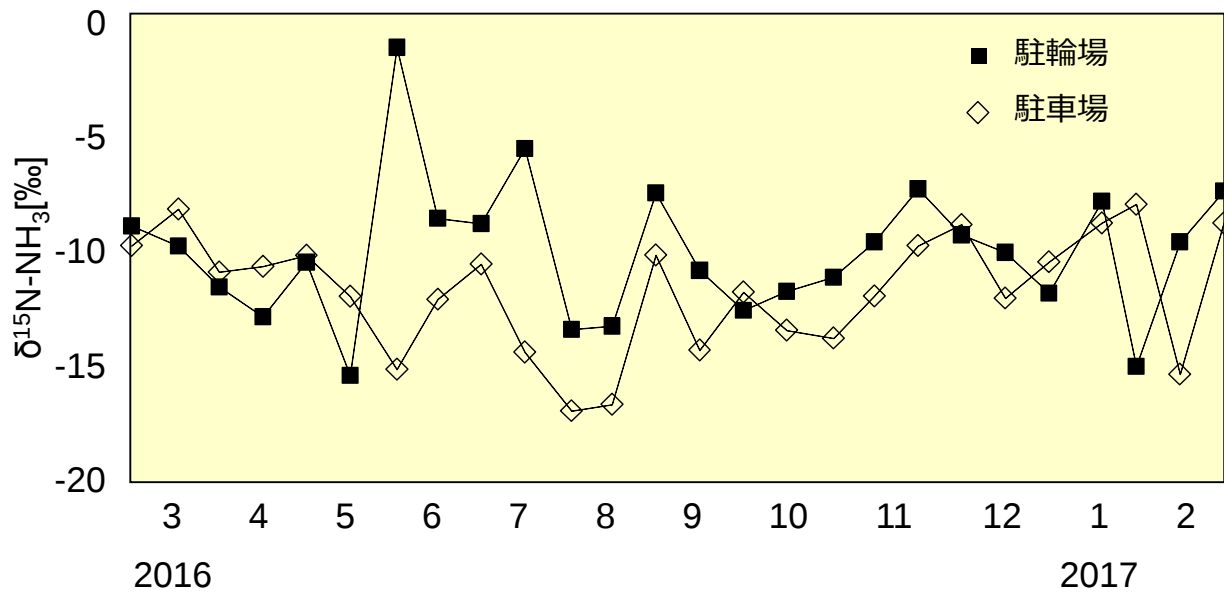


図32 一般環境におけるアンモニアの窒素安定同位体比の推移

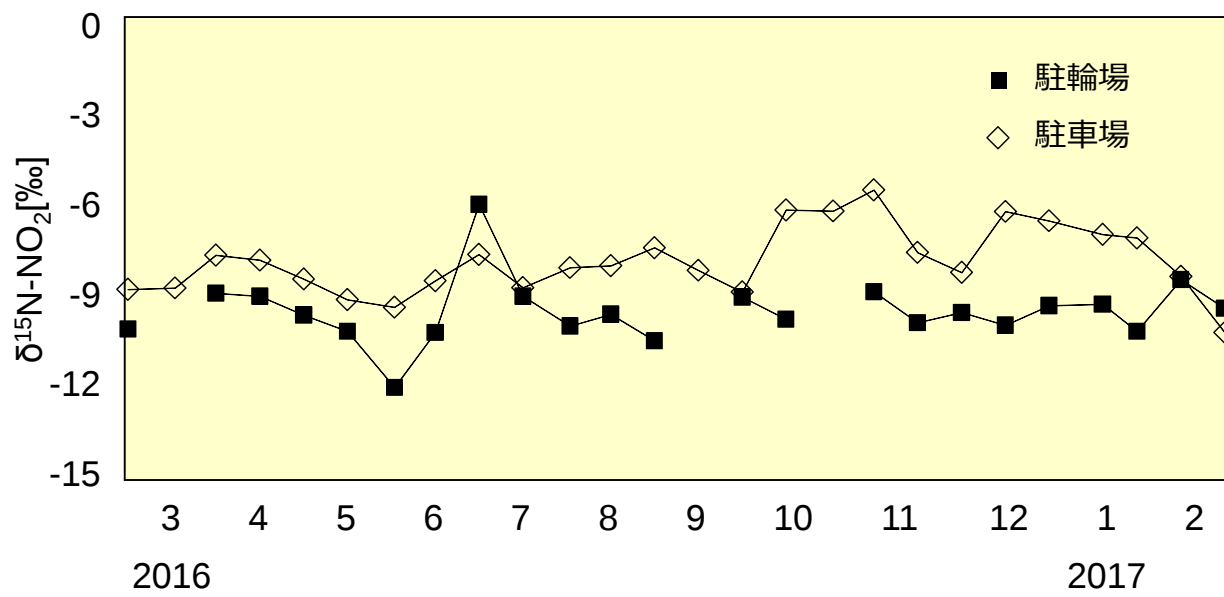


図33 一般環境における二酸化窒素の窒素安定同位体比の推移

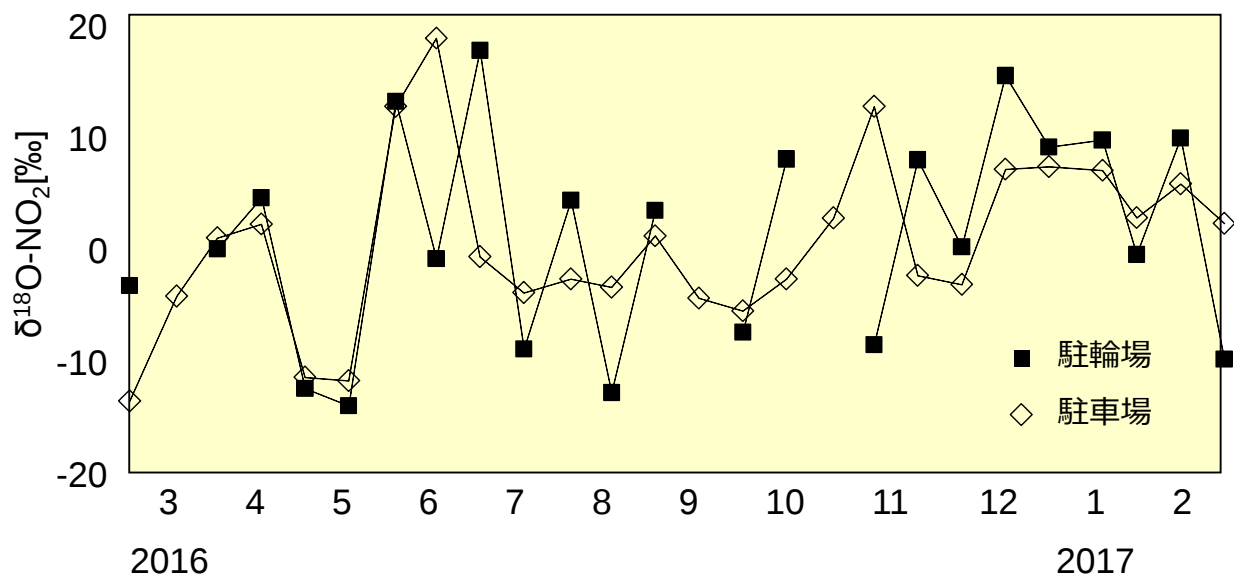


図34 一般環境における二酸化窒素の酸素安定同位体比の推移

(4) 混合モデルを用いた発生源解析

粒子中硝酸イオンの窒素安定同位体比から硝酸ガス（窒素酸化物）の窒素安定同位体比の値へと換算を行った。硝酸イオンの値は約 -4.6‰ ～ 4.8‰ を推移し、冬季に重く夏季に軽くなるという傾向があったが、換算後の値は -8.6‰ ～ 3.4‰ を推移し、夏期と冬期の値の差が約 12‰ 程度と変換前と比べ値の差は 4‰ 程度大きくなり、より明確に冬季に重く夏季に軽くなるという傾向になることがわかった（図35）。季節ごとの窒素安定同位体比の平均値は、それぞれ、春 -2.7‰ 、夏 -6.3‰ 、秋 -3.8‰ 、冬 1.6‰ であった。

NO_x ガスの発生源の数値としては、Heaton（1990）⁸⁾、Li and Wang（2008）¹³⁾を用いて、また混合モデルを利用したところ、季節ごとの寄与率は、それぞれ自然由来：春 29% ・夏 37% ・秋 31% ・冬 18% 、燃焼由来：春 38% ・夏 30% ・秋 36% ・冬 47% 、自動車排ガス：春 33% ・夏 33% ・秋 33% ・冬 35% であった（図36、図37）。自動車排ガスの寄与率は、1年間を通して約 30% を推移し、自然由来の寄与率は夏に約 40% 程度、燃焼由来の寄与率は自然由来とは逆に冬に約 50% となっている。このことから、年間を通して、寄与率は変化していることが分かった。自然由来や燃焼由来のような季節によって大きな変動を示す発生源と、自動車排ガスのような年間を通してほとんど変化をしない発生源とを識別することができ、また同位体混合モデルを用いての発生源寄与率の算出は可能であることがわかった。

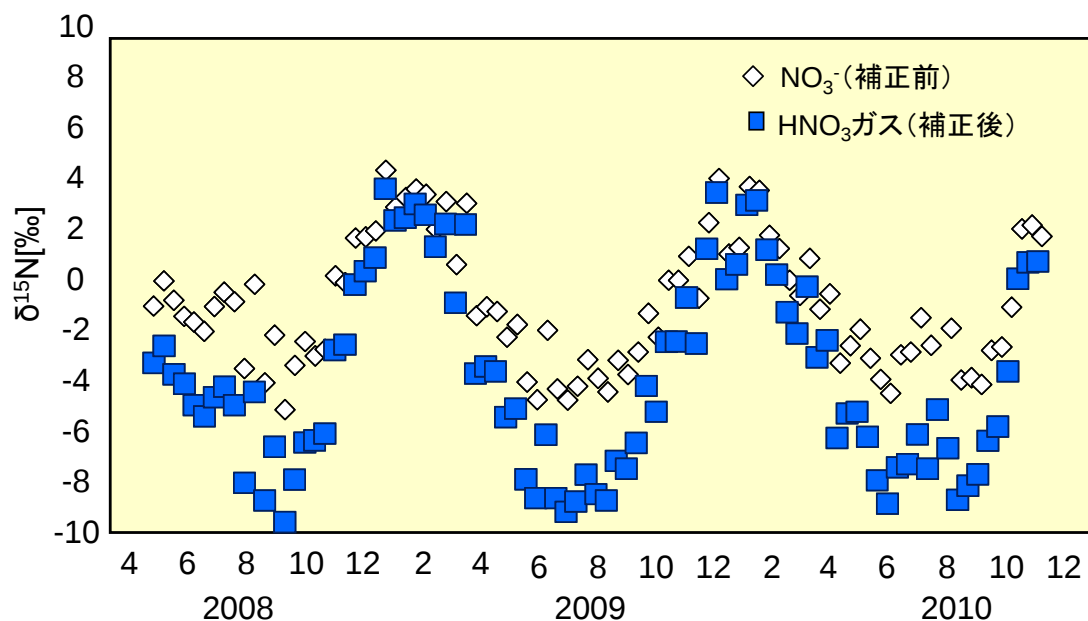


図35 実測値 NO_3^- 粒子および換算後の NO_x ガスの窒素安定同位体比

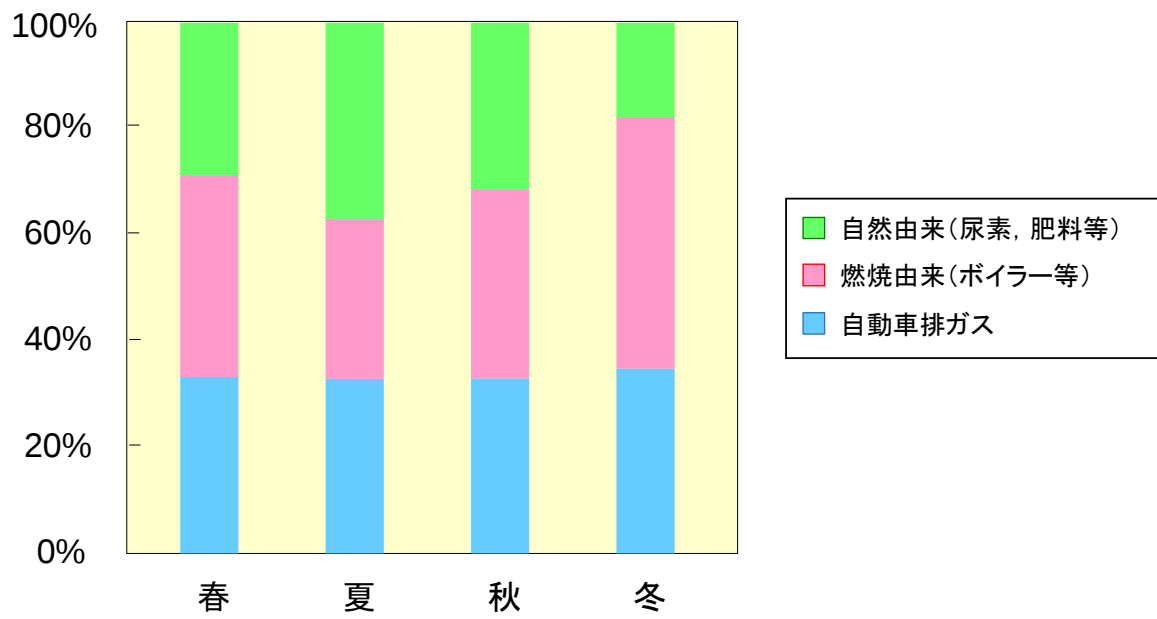


図36 季節ごとの発生源寄与率の推定

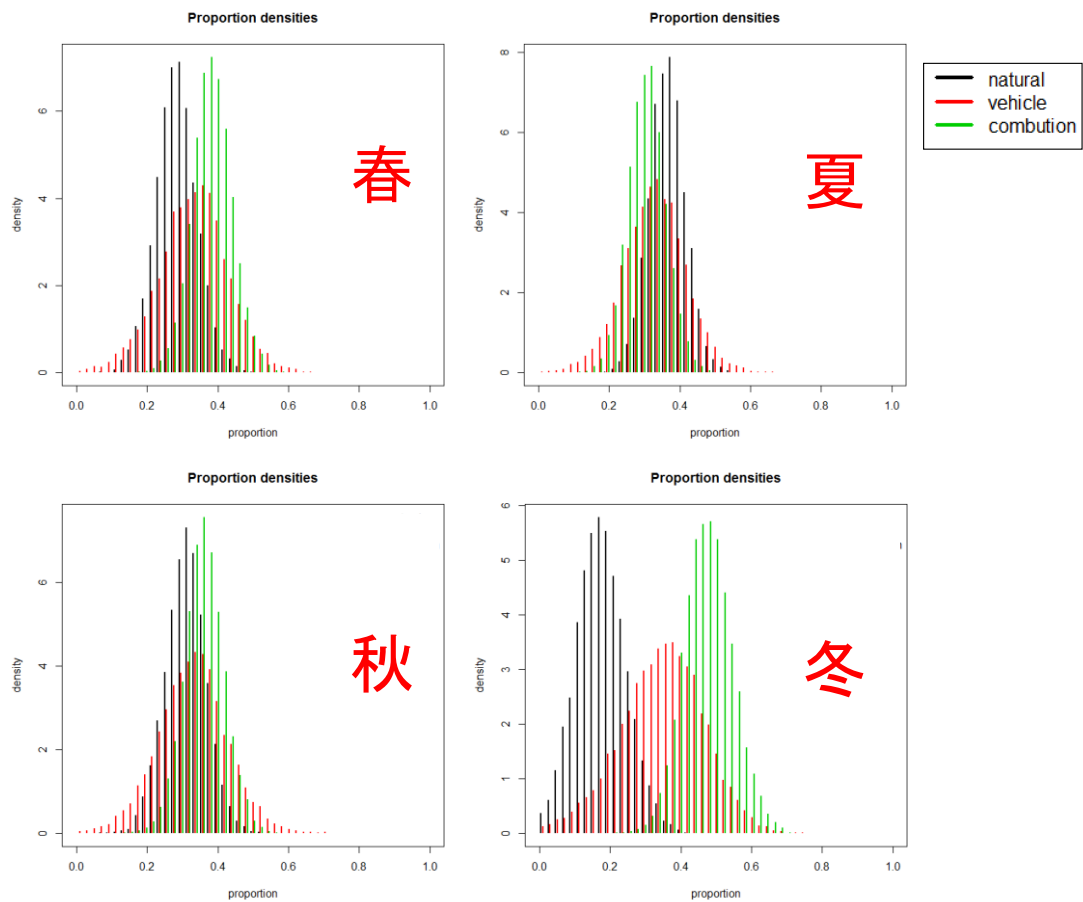


図37 季節ごとの発生源寄与率の分布

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

過去、二次生成粒子は大きな寄与を占めているにも関わらず、イオン成分の濃度測定が主たる研究で、実際に環境中でどのような挙動を示しているか、また発生源はよくわかっていなかった。本研究は、二次生成粒子形成のメカニズム解明や発生源解析に、脱窒菌法という新たな分析方法を適用すること、またガスから粒子への同位体分別係数を算出すること、同位体混合モデルという新たなモデルを応用することが特色であり、独創的な点であると考えている。特に脱窒菌法システムの立ち上げは非常に難しく、安定した測定結果を出せない研究機関も多いと聞いており、実際に高精度かつ高確度な分析方法の確立は科学的にも有益な知見になったと考えている。またスタンフォード大学に短期留学し、様々な技術等を導入できたことは、今後、国内においても重要な情報になると考えられる。また、粒子化分別係数は、過去、理論的なデータか、粒子を模擬した結果のみしかなかったため、実際に粒子を作成して、ガスから粒子への分別係数を算出出来たことは、科学的にも非常に有用な知見になると考えられる。また、それら粒子化分別係数を使って、同位体混合モデルという生態学で使われているモデルを応用して、発生源寄与率を推定することも実用面でも非常に重要な一歩になったと考えている。科学的意義を考慮した本研究開発によって得られた成果をまとめると以下のようになる。

- ① 開発者の一人であるスタンフォード大学のK. Casciotti准教授の研究室に訪問して、分析方法に限らず、物品選定、洗浄方法、データ解析、管理方法等、詳細に渡る情報収集及び技術を導入することが出来た。
- ② K. Casciotti准教授と研究代表者所属機関用の装置は一部異なるため、改良等も行って、さらに使い易く、安定した方法を開発することが出来た。その結果、国内研究機関では、まだ数か所程度しか可能になっていない脱窒菌法システムの立ち上げを行うことが可能になった。
- ③ 開発者であるスタンフォード大学と6種の試薬の比較検証実験を行った結果、高精度、高確度な分析法を確立することが出来た。また、アンモニアを臭素酸による酸化反応と脱窒菌法とを組み合わせた方法においても十分、高精度な分析が可能になった。
- ④ ガス状成分（アンモニアガス、硝酸ガス）の窒素安定同位体比、酸素安定同位体比の高精度な分析方法（塗布する試薬やフィルターの枚数の決定等）を確立することが出来た。
- ⑤ 核凝縮型単分散粒子発生機を用いて、ガスから粒子化の分別係数（粒子化分別係数）を国内外で初めて算出することが出来、かつ温度によって分別係数が異なることが判明した。
- ⑥ パッシブサンプラーを用いて、約1年間に渡り、実環境におけるアンモニアガス、二酸化窒素ガス中の窒素安定同位体比、酸素安定同位体比のサンプリングを実施し、季節傾向等があることがわかった。
- ⑦ 算出された温度影響のある粒子化分別係数と同位体混合モデルを用いて、国内外で初めて、粒子中の硝酸イオンの定量的な発生源解析を行うことが出来た。この結果、年間を通して自動車が主な発生源で、冬季に燃焼由来、夏季に自然由来の発生源寄与率が増加することが明らかになった。

（２）環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究は、重点課題【17】健全な水・大気の循環、行政ニーズ（17-2）大気環境中におけるPM_{2.5}二次生成メカニズムの解明に関連している。PM_{2.5}は呼吸器疾患等の健康影響が懸念されている物質である。特に粒径が小さいPM_{2.5}は呼吸器の深部まで入りやすく健康を損なう恐れがあり、2009年 9 月には国内で初めてPM_{2.5}の環境基準値の答申が出された。しかし、PM_{2.5}は環境基準値を超える地域も多数あること、またSPMは近年大きな濃度低減は見られないことなど、これまで重点的に規制を行ってきた自動車だけに限らない多様な汚染源の存在が示唆され、その実態解明の必要性が叫ばれている。特に大きな寄与を占める二次生成粒子の環境動態は越境汚染も含めて解明する必要があるものの、現状、どの程度、アンモニアガスや窒素酸化物などが、我が国の粒子に影響しているか等は、ほとんどわかっていないのが現状である。本研究では、二次性粒子のメカニズム解明を通して、今後、規制をかけるために必要となる定量的な発生源寄与率推定を目指し、実際の硝酸イオンの発生源解析を算出した粒子化分別係数と同位体混合モデルを用いて推定することが出来た。このことは、今後、効率・効果的な環境政策にとって最も重要なものとなると考えている。

6．国際共同研究等の状況

（１）国際共同研究計画名：脱窒菌法の分析方法の習得及び検証実験

協力案件：

最新の脱窒菌法の菌の管理、分析方法の習得、及び、6 種の硝酸試薬を分析し、比較検討する。

カウンターパート：K.Casciotti准教授（スタンフォード大学、米国）

国際的な位置付け：

脱窒菌法の開発者の一人であり、窒素循環において国際的にもトップレベルの研究室を主催している。

7．研究成果の発表状況

（１）誌上発表

<論文（査読あり）>

特に記載すべき事項はない。

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 川島洋人 (2015)、アジアにおけるエアロゾル研究の現状と発生源解析、ダッカ大学、バンラデシュ
- 2) 川島洋人 (2015)、アジアにおけるエアロゾル研究の現状と発生源解析、マレーシア国民大学、マレーシア
- 3) Hiroto Kawashima (2016), Source apportionment for aerosol and measurement for stable isotope of NH_3 , NO_2 and NO_x in gas by using Bactria method, Abstract of ASITA-Advances in Stable Isotope Techniques and Applications, Philadelphia

(3) 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 川島洋人(2014)、研究・実験室紹介、秋田県高校教員大学訪問（20名）、秋田県立大学
- 2) 川島洋人(2014)、研究・実験室紹介、西南交通大学留学生（20名）、秋田県立大学
- 3) 川島洋人(2014)、最先端分析装置を使った環境・鑑識の研究（10名）、秋田県立大学オープンキャンパス施設見学会、秋田県立大学1) 川島洋人(2015)、最先端分析装置を使った環境・鑑識の研究（5名）、秋田県立大学オープンキャンパス施設見学会、秋田県立大学
- 4) 川島洋人(2016)、汚染源はどこだ！？～安定同位体を使った環境鑑識学の研究～（50名）、秋田県立大学サイエンスカフェ、秋田県立大学
- 5) 川島洋人(2016)、環境リスク研究における有害化学物質の発生源解析（80名）、PM2.5、農薬混入事件について、第58回全国水道週間記念講演会
- 6) 川島洋人(2016)、環境リスク研究における有害化学物質の発生源解析（20名）、PM2.5、農薬混入事件について、藤沢南ロータリークラブ

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) Cao, J.J., Zhu, C.S., Chow, J.C., Liu, W.G., Han, Y.M. and Watson, J.G.: Stable carbon and oxygen isotopic composition of carbonate in fugitive dust in the Chinese Loess Plateau, *Atmos. Environ.*, 42, 9118–9122 (2008)
- 2) Freyer, H. D.: Seasonal variation of $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ ratios in atmospheric nitrate species, *Tellus.*, 43B, 30–44 (1991)
- 3) Freyer, H. D.: On the interaction of isotopic exchange processes with photochemical reactions in atmospheric oxides of nitrogen, *J. Geophys. Res.*, 98, 14791–14796 (1993)

- 4) Hayasaka, H., Fukuzaki, N., Kondo, S., Ishizuka, T. and Totsuka, T.: Nitrogen isotopic ratios of gaseous ammonia and ammonium aerosols in the atmosphere. *Japan Soc. Atm. Env.*, 39, 272–279 (2004) (in Japanese with English abstract)
- 5) Heaton, T.H.E.: $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratios of nitrate and ammonium in rain at Pretoria, South Africa. *Atmos. Environ.*, 21, 843–852 (1978)
- 6) Heaton, T.H.E., and Collett, G. M.: The analysis of $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratios in natural samples, with emphasis on nitrate and ammonium in precipitation. *CSIR Res. Rep.*, 624, Counc. Sci. Ind. Res., Pretoria (1985)
- 7) Heaton, T.H.E.: Isotopic Studies of Nitrogen Pollution in the Hydrosphere and Atmosphere: A Review. *Chem. Geology.*, 59, 87–102 (1986)
- 8) Heaton, T.H.E.: $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratios of NO_x from vehicle engines and coal-fired power stations. *Tellus.*, 42B, 304–307 (1990)
- 9) Hoering, T.: The isotopic composition of the ammonia and the nitrate ion in rain, *Geochim. Cosmochim. Acta.*, 12, 97–102 (1957)
- 10) Kawashima, H. and Kurahashi, T.: Inorganic ion and nitrogen isotopic compositions of atmospheric aerosols at Yurihonjo, Japan; Implications for nitrogen sources, *Atmos. Environ.*, 45, 6309–6316 (2011)
- 11) 川島洋人: 窒素同位体を用いた浮遊粒子状物質のアンモニウムイオン、硝酸イオンの生成機構の解明と起源推定、*エアロゾル研究*、29、110–116 (2014)
- 12) Kundu, S., Kawamura, K. and Lee, M.: Seasonal variation of the concentrations of nitrogenous species and their nitrogen isotopic ratios in aerosols at Gosan, Jeju Island: Implications for atmospheric processing and sources changes of aerosols, *J. Geophys. Res.* 115, D20305 (2010)
- 13) Li, D. and Wang, X.: Nitrogen isotopic signature of soil-released nitric oxide (NO) after fertilizer application, *Atmos. Environ.*, 42, 4747–4754 (2008)
- 14) Moore, H.: Isotopic measurement of atmospheric nitrogen compounds, *Tellus.*, 26, 169–174 (1974)
- 15) Moore, H.: The isotopic composition of ammonia, nitrogen dioxide and nitrate in the atmosphere, *Atmos. Environ.*, 11, 1239–1243 (1977)
- 16) Pavuluri, C. M., Kawamura, K., Tachibana, E. and Swaminathan, T.: Elevated nitrogen isotope ratios of tropical Indian aerosols from Chennai: Implication for the origins of aerosol nitrogen in South and Southeast Asia, *Atmos. Environ.*, 44, 3597–3604 (2010)
- 17) Widory, D.: Nitrogen isotopes: Trace of origin and processes affecting PM_{10} in the atmosphere of Paris, *Atmos. Environ.*, 41, 2382–2390 (2007)
- 18) Yeatman, S. G., Spokes, L. J., Dennis, P. F. and Jickells, T. D.: Comparison of aerosol nitrogen isotopic composition at two polluted coastal site, *Atmos. Environ.*, 35, 1307–1320 (2001a)
- 19) Yeatman, S.G., Spokes, L.J., Dennis, P.F. and Jickells, T.D.: Can the study of nitrogen isotopic composition in size-segregated aerosol nitrate and ammonium be used to

- investigate atmospheric processing mechanisms?, *Atmos. Environ.*, 35, 1337–1345 (2001b)
- 20) Zhang, Y., Liu, X. J., Fangmeier, A., Goulding, K. T. W. and Zhang, F. S. Nitrogen inputs and isotopes in precipitation in the North China Plain. *Atmos. Environ.*, 42, 1436–1448 (2008)
- 21) Sakata, M.: A simple and rapid method for $\delta^{15}\text{N}$ determination of ammonium and nitrate in water samples, *Geochem. J.*, 35, 271–275 (2001)
- 22) Sigman, D.M., Altabet, M.A., Michener, R.H., MaCorkle, D.C., Fry, B. and Holmes, R.M.: Natural abundance-level measurement of the nitrogen isotopic composition of oceanic nitrate: An adaptation of the ammonia diffusion method, *Marine Chem.*, 57, 227–242 (1997)
- 23) Cassciotti, K.L., Sigman, D.M., Hastings, M.G., Bohlke, J.K., Hilkert, A.: Measurement of the oxygen isotopic composition of nitrate in seawater and freshwater using the denitrifier method, *Anal. Chem.*, 74, 4905–4912 (2002)
- 24) Zhang, L., Altabet, M.A., Wu, T. and Hadas, O.: Sensitive Measurement of $\text{NH}_4^+ \text{ }^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ($\delta^{15}\text{NH}_4^+$) at Natural Abundance Levels in Fresh and Saltwaters, *Anal. Chem.*, 79, 5297–5303 (2007)
- 25) Felix, J.D., Elliott, E.M., Gish, T.J., McConnell, L.L. and Shaw, S.L.: Characterizing the isotopic composition of atmospheric ammonia emission sources using passive samplers and a combined oxidation-bacterial denitrifier approach, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 27, 2239–2246 (2013)
- 26) Phillips, D.L, Gregg, J.W.: Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources, *Oecologia*, 136, 261–269 (2003)
- 27) Parnell, A.C., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A.L.: Source Partitioning Using Stable Isotopes: Coping with Too Much Variation, *Plos One*, 5, e9672 (2010)
- 28) Moore, J.W. and Semmens, B.X.: Incorporating uncertainty and prior information into stable isotope mixing models, *Ecology Letters.*, 11, 419–531 (2008)
- 29) Post D.M.: The long and short of food-chain length, *Trends Ecol.Evol.*, 17, 269–277 (2002)
- 30) Divers, M.T., Elliott, E.M., Bain, D.J.: Quantification of Nitrate Sources to an Urban Stream Using Dual Nitrate Isotopes, *Environmental Science & Technology*, 48, 10580–10587 (2014)
- 31) Pan, Y., Tian, S., Liu, D., Fang, Y., Zhu, Y., Zhang, O., Zheng, B., Michalski, G., and Wang, Y.: Fossil Fuel Combustion-Related Emissions Dominate Atmospheric Ammonia Sources during Severe Haze Episodes: Evidence from ^{15}N - Stable Isotope in Size-Resolved Aerosol Ammonium, *Environmental Science & Technology*, 50, 8049–8056 (2016)
- 32) Kawashima H., and Haneishi, Y.: Effects of combustion emissions from the Eurasian continent in winter on seasonal $\delta^{13}\text{C}$ of elemental carbon in aerosols in Japan, *Atmos. Environ.*, 46, 568-579 (2012)
- 33) 環境省：ガス成分の測定方法（2014）

- 34) 野口 泉、大塚 英幸、秋山 雅行、酒井 茂克、加藤 拓紀、フィルターパック法による亜硝酸ガス濃度の測定、*大気環境学会誌*、42、162-174 (2007)
- 35) 横浜市環境科学研究所、短期暴露用拡散型サンプラーを用いた環境大気中の NO、NO₂、SO₂、O₃およびNH₃濃度の測定方法、*横浜市環境科学研究所*、(2010)
- 36) Heaton, T.H.E., Spiro1, B., Madeline, S., Robertson, C.: Potential canopy influences on the isotopic composition of nitrogen and sulphur in atmospheric deposition. *Oecologia*, 109, 600–607(1997)
- 37) Felix, J.D., Elliott, E.M., Gay, D.A.: Spatial and temporal patterns of nitrogen isotopic composition of ammonia at U.S. ammonia monitoring network sites. *Atmospheric Environment*, 150, 434–442(2017)

Reaction Mechanism and Source Apportionment of Secondary Aerosol

Principal Investigator: Hiroto KAWASHIMA

Institution: Akita Prefectural University
 84-4 Ebinokuchi Tsuchiya, Yurihonjo City, Akita Prefecture, Japan
 Tel: +81-184-27-2166 / Fax: +81-184-27-2189
 E-mail: kawashima@akita-pu.ac.jp

[Abstract]

Key Words: Aerosol, Nitrogen isotope, Isotope fractionation, Source apportionment

Suspended particulate matter (SPM), defined to particle size as 100 % cut-off aerodynamic diameter at 10 μm , has adverse effects on human health. It could not be decreased reduce from 1990 s and maintain approximately 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. One reason of difficult to decrease SPM, the mechanism of SPM formation and behavior in atmosphere is much more complicated, and it is very difficult to comprehend the relationship between source and receptor of SPM.

In these years, stable isotope ratio of small sample volume can be analyzed high precision by isotope ratio mass spectrometry coupling with elemental analyzer. Source apportionment for aerosol using stable isotope ratio was conducted. In addition, recently, a bacterial method of measuring nitrogen and oxygen isotope ratios in nitrate has developed and widespread for various field. The method is based on the use of denitrifying bacteria that quantitatively convert nitrate to nitrous oxide. The method has dramatically decreased the sample concentration and size requirements for isotopic analysis of nitrate compared to previous methods. Thus, the method is expected such as powerful tool for source identification and understanding mechanism. But the existed researches intended for stable nitrogen isotope ($\delta^{15}\text{N}$) of particulate matter and gas samples, NH_3 and NO_2 have been limited. We try to analysis $\delta^{15}\text{N}$ -ammonium ($\delta^{15}\text{N}\text{-NH}_4^+$) and nitrate ($\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$) of SPM and $\delta^{15}\text{N}$ -ammonia ($\delta^{15}\text{N}\text{-NH}_3$), nitrogen dioxide ($\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_2$), to estimate source of NH_4^+ and NO_3^- of SPM using Bactria method.

Compared with the last test Stanford university, the difference for $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{18}\text{O}$ in nitrate nitric acid reagent were 0.07 ~ 0.24 ‰ and 0.15 ~ 0.27 ‰, respectively and it was possible to measure by high precision and accuracy. The isotope fractionations from gas to aerosol of ammonia were 33 ‰ (−5 °C), 34 ‰ (5 °C), 40 ‰ (25 °C) and 47 ‰ (35 °C). The isotope fractionations from gas to aerosol of nitrate were 5.9 ‰ (−5 °C), 2.0 ‰ (5 °C), 3.5 ‰ (25 °C) and 6.3 ‰ (35 °C). It was found that the isotopic fraction coefficient of ammonia was larger than that of nitric acid and the coefficient becomes larger as the temperature becomes higher for the isotope fractionation. Source apportionment was conducted using existed data and stable

isotope mixing model. The contribution rate for vehicle exhaust is approximately 30 % throughout the year, the contribution ratio of natural origin is approximately 30 % ~ 40 % in summer/autumn, the contribution ratio from high-temperature combustion is approximately 40 % in winter.