

平成 30 年 6 月 29 日現在

機関番号：82114

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21123

研究課題名(和文) 前駆体からの生成ポテンシャルを考慮した残留性有機フッ素化合物類の環境動態解析

研究課題名(英文) Analyses on Environmental Behavior of Perfluorinated Compounds including Their Formation Potentials from Precursors

研究代表者

鈴木 裕識 (SUZUKI, Yuji)

国立研究開発法人土木研究所・土木研究所(つくば中央研究所)・研究員

研究者番号：20762272

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトの健康や生物への悪影響が懸念されるペルフルオロ化合物類(PFCs)について、構築した生成ポテンシャル(PFC-FPs)評価手法を導入することにより、前駆体からの生成を考慮した存在実態と移行経路の把握を試みた。具体的には、河川流下過程における挙動調査、3カ国(日本、タイ王国、ベトナム)4地域での存在実態調査、前駆体曝露試験による生物体内中のPFCs生成の検証を行った。その結果、水環境中においては、PFCsよりも分子量が大きく、構造が複雑な前駆体が底質や水生生物等の媒体に蓄積しやすい傾向が示された。また、それらの媒体中で生成したPFCsやその他の生成物が再度水中に排出される可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to analyze on environmental behavior of perfluorinated compounds (PFCs) and their precursors by means of total oxidisable precursors assay to understand the occurrence of PFCs formation potentials (PFC-FPs). In detail, four activities were conducted as follows; 1) survey on the behavior of PFCs and PFC-FPs during river transport, 2) survey on the occurrences in water and aquatic biota at four different areas from three countries (Japan, Thailand, Vietnam), 3) survey on the occurrences in fish and shellfish, 4) examination on the formation of PFCs and other metabolites from a precursor during an exposure experiment to Japanese Medaka. As a result, the precursors were indicated to pose higher accumulative potentials to sediments and aquatic biota than PFCs. In addition, some precursors could be metabolized into PFCs and other transformation products during the retention time in biota and the products are possibly released into the water environment.

研究分野：環境工学

キーワード：ペルフルオロ化合物類 前駆体 生成ポテンシャル 環境動態 蓄積 底質 水生生物

1. 研究開始当初の背景

現在、世界中で日々1万個以上の新規化合物が生み出されている。焦げ付かないフライパンのフッ素加工等に用いられてきた人工のペルフルオロ化合物類(以下PFCs)は、残留性、蓄積性があり、遺伝子損傷性や神経毒性が報告され、代表化合物PFOAは欧州化学物質庁の高懸念物質候補に挙げられている。これまでに、代表的なPFOAやPFOSは米国環境保護庁と関連企業による排出量削減運動(2006年)やストックホルム条約による製造・輸入・使用の制限(2009年)により汚染低減への対策が進められてきたが、対照的に代替化合物の排出量増加が報告されるようになった。

近年、前駆体からのPFCs生成が注目され始めている。前駆体の関連論文数は2012-2015年の4年間で約2倍に増え、2015年(1月から5月の間)にはPFCs関連の総論文数の約30%を占める程になった。この結果、前駆体を起源とするPFCs汚染拡大の解明に資する環境データの蓄積が期待された。ところが、環境中の前駆体濃度報告は24件中わずか4件であり、存在実態の網羅的把握には至っていない。前駆体は易分解であり環境中で簡単に構造が変化することからも、個々の前駆体の存在把握は難しいのが現状である。

本研究グループでは、このような背景を鑑み、個々の前駆体の分析にとらわれず、前駆体から生成するPFCs量(PFCs生成ポテンシャル:PFC-FPs)に着目し(図1)、下水試料中の生成ポテンシャル評価手法の開発を進めてきた。すなわち、環境中で不安定な前駆体に実験処理を施し、分析法を習得しているPFCsに変換させ、包括的な前駆体存在量を把握する手法である。この手法を他の環境媒体に適用して各々の分析データを蓄積すれば、環境中におけるPFCsの挙動を明らかにできるものと考え、本研究を着想した。

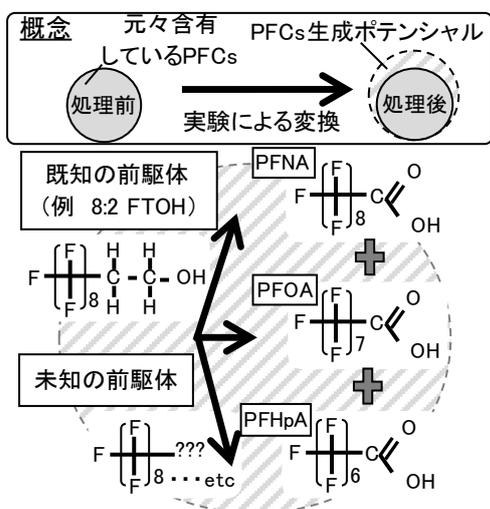


図1. 生成ポテンシャル評価手法の概念

2. 研究の目的

ペルフルオロ化合物類(PFCs)について、水環境中における前駆体からの生成ポテンシャル(PFC-FPs)を含めた存在実態と移行経路を把握することを主目的とした。

3. 研究の方法

15種のPFCs、15種のPFCs生成ポテンシャル(PFC-FPs)、19種の前駆体を含む有機フッ素化合物類を対象に、下水処理水、河川水、河川底質、水生生物中における存在実態調査を行った。また、室内実験により水生生物中における前駆体からのPFCsの生成挙動を検証した。具体的には、以下の4つの課題を設定し、取り組んだ。

- (1) 都市河川の流下過程におけるPFCsおよびPFCs生成ポテンシャルの挙動調査
- (2) 国内外の異なる地域におけるPFCsとPFCs生成ポテンシャルの存在実態調査
- (3) 海洋魚介類中におけるPFCsとPFCs生成ポテンシャルの存在実態調査
- (4) 室内実験による生物体内における前駆体からのPFOS生成の検証

調査および実験により得られた水試料はろ過後、溶存態試料と懸濁態試料に分け、溶存態試料は、Oasis® WAXカートリッジに通水後、目的成分を溶出し、定容して測定に供した。測定はHPLC-MS/MSで行った。懸濁態試料、底質試料、水生生物試料は、易分解性や揮発性の前駆体の揮散の影響を考慮して凍結乾燥機により乾燥処理を施した。その後、メタノールによる振とう抽出を行い、クリーンアップをした後、定容して測定した。PFC-FPsの分析については、溶存態試料は、250 mLをPPCO製ボトル(容量250mL)に入れ、NaOHが150mM、ペルオキシ二硫酸カリウムが60 mMとなるように加えて試料を調整し、95°C、24時間の条件でオートクレーブに供し加熱した。操作終了後、直ちに冷却し、得られた試料を上記の溶存態PFCs試料に施した前処理を行い、測定した。懸濁態試料は上述の懸濁態PFCs分析で示した方法に従って得られた抽出液を250 mLのPPCO製ボトルに入れてMilli-Q水で希釈し、溶存態PFC-FPsと同様に前処理し測定した。

4. 研究成果

(1) 都市河川の流下過程におけるPFCsおよびPFCs生成ポテンシャルの挙動調査  
下水処理水が水源のほぼ100%を占める京都市内の都市河川を対象に、流下過程におけるペルフルオロアルキルカルボン酸類(PFCAs)とその生成ポテンシャルの挙動の把握を主目的とし、調査を行った。その結果、PFHxAとPFOAの濃度が下水処理過程を経て増加し、さらに、生成ポテンシャルとして評価された前駆体が放流水中に残留していることが確認された。また、河川流下過程においてPFOAやPFHxAが生成ポテンシャルとして評価された前駆体から生成していた

可能性が示唆された。さらに、PFCAs 生成ポテンシャルとして評価された前駆体が、PFCAs 自体よりも底質に移行しやすい傾向が示された。HPLC-MS/MS を用いた MRM 測定により、未知の有機フッ素化合物の探索をした結果、5:2Ketone や 5:3FTCA とみられる化合物が検出された。このうち、5:3FTCA とみられる物質は底質に移行しやすく、調査した河川の底質中に蓄積していたことが示唆された。

## (2) 国内外の異なる地域における PFCs と PFCs 生成ポテンシャルの存在実態調査

国内外の4地域（関西圏の淀川流域、沖縄の水環境、タイ王国バンコク近郊、ベトナム国ダナン都市域）で調査を行った。

淀川流域調査では、2016年8月~10月の間に15種PFCsと15種PFC-FPsの調査を実施し、負荷量(g/日)の推定を行った。その結果、大阪湾に淀川から流れ込む15種PFCsの合計負荷量は1,050g/日、15種PFC-FPsの合計負荷量は3,810g/日であり、15種PFC-FPsの合計負荷量は15種PFCs自体の3.62倍であった。また、淀川下流域で淀川と並行して流れている安威川における負荷量を推定したところ、水量が淀川の50分の1程度であるにもかかわらず、15種PFCsの合計負荷量は5,200g/日、15種PFC-FPsの合計負荷量は14,000g/日であり、15種PFC-FPsの合計負荷量は15種PFCs自体の2.69倍であった。以上のことから、PFC-FPsはPFCsと同程度以上の濃度で存在していること、また、PFC-FPsはPFCsと同様にポイントソースからの負荷の寄与が大きいことが示唆された。また、京都市内の都市河川において、魚類(n=1)と甲殻類(n=9)を採取し、PFCsとPFC-FPsを分析した結果、PFOAが0.1~172ng/g(平均値:22.4ng/g)、PFHxAが15.8~171ng/g(平均値:79.0ng/g)で検出され、分析した過半数の生物からPFCs自体よりも高含有量の生成ポテンシャルが検出された(PFOA-FP:最大270倍、PFHxA-FP:最大10.7倍)。

沖縄調査では、過去にPFOSが高濃度で検出された報告事例がある比謝川流域を対象に、2016年6月~10月に調査を行った。河川水の調査結果では、大工廻川でPFOS412ng/L、PFHxS164ng/L、15種PFC-FPs405ng/Lを検出し、長田川ではPFOS濃度は27ng/Lであったものの、PFC-FPsはその28.9倍の781ng/Lを検出した。また、同流域における河川魚類の調査を実施した。分析したのは、ソードテール(n=3)、パールダニオ(n=2)、グッピー(n=4)、ティラピア(n=6)である。魚の種による含有量の顕著な差はみられなかった。分析した15試料の平均値で比較すると、PFCsでは、対象15種のうちPFOS(64ng/g)が最も高含有量で検出され、次いでPFHxAが44ng/gで検出された。PFOSについては、環境省が2015年に調査した国内17都道府県の魚類の含有量の中央値(0.09ng/g)

と比べ約710倍高く、比謝川の河川魚類が高度に汚染されていることが示された。その他ではPFDoDA(C12、炭素数12)、PFUnDA(C11)、PFTrDA(C13)、PFTeDA(C14)、PFDA(C10)から、それぞれ、29ng/g、24ng/g、19ng/g、14ng/g、6ng/gで検出され、長鎖、あるいは、脂溶性の高い化合物の含有量が高い傾向にあった。一方で、ポリフルオロ化合物類ではN-ethyl perfluorooctane sulfonamidoethanol(N-EtFOSE)が584ng/g、1H,1H,2H,2H-perfluorooctanesulfonic acid(6:2FTS)が190ng/g、1H,1H,2H,2H-perfluorodecane sulfonic acid(8:2FTS)が7.8ng/gで検出された。N-EtFOSEはPFOSの前駆体の一つとして知られており、また、6:2FTSや8:2FTSが泡消火剤(Aqueous Film Fighting Form)から生成したという研究事例があることから、比謝川の汚染源が泡消火剤である可能性が示唆された。次に、文献調査により得られた標準品未入手ではあるがPFOSの前駆体であると考えられるポリフルオロ化合物類の高含有量で検出されたティラピア試料に適用して、HPLC-MS/MS測定を行った。その結果、6つの未知化合物のピークが得られた。特に明瞭なピーク形状が得られたのはPerfluorooctane sulfonamidoalkyl amine(PFOSAm、MRM条件583→169)とN-ethyl perfluorooctane sulfonamido acetic acid(N-EtFOSAA、MRM条件584→83)と考えられるクロマトグラムであった。PFOSAmは泡消火剤の有効成分の一つであるPerfluorooctane sulfonamidealkyl amine ammonium salt(PFOSAmS)の分解生成物であると考えられており、PFOSや関連する中間生成物の親化合物であると推察された。また、既報ではN-EtFOSAAがN-EtFOSEの分解生成物と位置づけられており、比謝川の魚類中で含有量の多かったN-EtFOSEが河川環境中でN-EtFOSAAを経てPFOSに変換した可能性が示唆された。さらに、N-EtFOSEとPFOSの含有量比(N-EtFOSE/PFOS)について、同じ魚試料の内臓部とそれ以外の体部における含有量の比較をした結果を図2に示す。PFBS、PFHxS、PFOSの3種ペルフルオロアルキルスルホン酸類(PFSAs)は内臓中含有

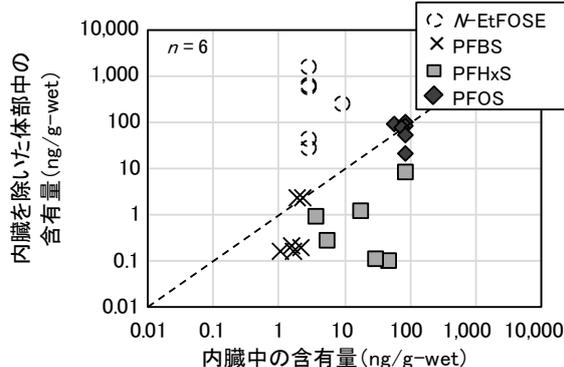


図2. ティラピアの異なる部位における濃度比較

量の方が高い傾向にあったのに対し、*N*-EtFOSE は内臓中含有量が低い傾向にあった。なお、上記で議論した PFOSAm と *N*-EtFOSAA は内臓部からは検出されず、内臓を除いた体部から検出された。これらの結果から、*N*-EtFOSE が魚の体内で代謝され PFOS を生成した可能性が示唆された。

タイ王国バンコク近郊調査では、2 箇所の工業団地内の河川においてティラピア中の含有量調査を実施した。得られた結果を平均値で比較すると、工業団地 A ( $n=3$ ) では PFOS が 7.6 ng/g、PFOS-FP が 8.9 ng/g で検出され、PFOA が 4.4 ng/g、PFOA-FP が 10.4 ng/g で検出された。同様に、工業団地 B ( $n=4$ ) では PFOS が 9.6 ng/g、PFOS-FP が 11.3 ng/g で検出され、PFOA が 14.2 ng/g、PFOA-FP が 10.4 ng/g で検出された。

ベトナム国ダナン都市域での調査ではティラピア ( $n=6$ ) 中の含有量調査を実施した。その結果、PFOA と PFHxA 以外の PFCs はほぼ検出されず、PFOA は最大で 781 ng/g、PFHxA は最大で 101 ng/g で検出された。PFCs-FP はほとんど検出されず、PFOA-FP が最大で 36.4 ng/g で検出された程度であった。

以上の 4 地域の河川調査により、PFCs と同様に PFC-FPs もポイントソースからの負荷の寄与が大きく、親前駆体を探索し考察することで、起源を特定できる可能性が示唆された。また、河川水中だけではなく河川魚類中にも PFCs と同程度以上の PFCs-FPs が含有されていることが明らかとなった。さらに、PFCs-FP を含めた PFCs 汚染が懸念される地域（淀川流域、沖縄比謝川流域、バンコク近郊の工業団地内河川）と PFCs そのものみの汚染が懸念される地域（ベトナム国ダナン都市域）とで汚染の特徴が異なることが示された。

### (3) 海洋魚介類中における PFCs と PFCs 生成ポテンシャルの存在実態調査

生物への蓄積についてさらに検討することを目的として、2016 年 1 月から 6 月の間に日本国内 9 都道府県で水揚げされた、サケ（北海道、宮城）、サワラ（石川）、サクラエビ（静岡）、イワシ（大阪、徳島）、ブリ（愛媛）、ヨコワ（福岡）、カツオ、マグロ、ソデイカ、モズク（沖縄）の海洋魚類を入手し、分析に供した。本研究で分析した魚介類中の 15 種 PFCs および 15 種 PFC-FPs の存在量についてみると、PFOS および PFOS-FP の存在量が最も多かった試料は大阪のイワシでそれぞれ 8.4 ng/g、7.5 ng/g であった。欧州食品安全機関は 2008 年に PFOS の耐容一日摂取量 (TDI) を 150 ng/kg・体重/日と設定しており、今回分析した大阪のイワシ試料を平均量摂取した場合、TDI 値の 3.1%、生成ポテンシャルを含めると約 6.0% に相当する量が魚介類のみでも曝露されることとなるため、大阪湾における汚染状況が懸念された。一方で、15 種 PFCs の合計値と 15 種 PFC-FPs の合計値では、大阪のイワシがそれぞれ 33 pmol/g、53

pmol/g、静岡のサクラエビが 37 pmol/g、53 pmol/g、福岡のヨコワが 9 pmol/g、61 pmol/g であり、PFOS のみの場合と比較して各地域の差が小さかった。また、15 種 PFCs の合計存在量について、測定した 12 試料の平均値は 14.9 pmol/g、15PFC-FPs では 29.3 pmol/g であり、本研究で分析した魚介類中には、平均して、PFCs を生成する前駆体が PFCs の約 2.0 倍存在していたと推算された。

### (4) 室内実験による生物体内における前駆体からの PFOS 生成の検証

沖縄調査において魚類中から高含有量で検出された *N*-EtFOSE について、魚類中における代謝と PFOS やその他の生成化合物の生成挙動を検討することを目的として、ヒメダカを対象に回分式曝露試験を行った。曝露期における試験水とヒメダカ中の *N*-EtFOSE とその代謝物の濃度を図 3 に示す。曝露化合物

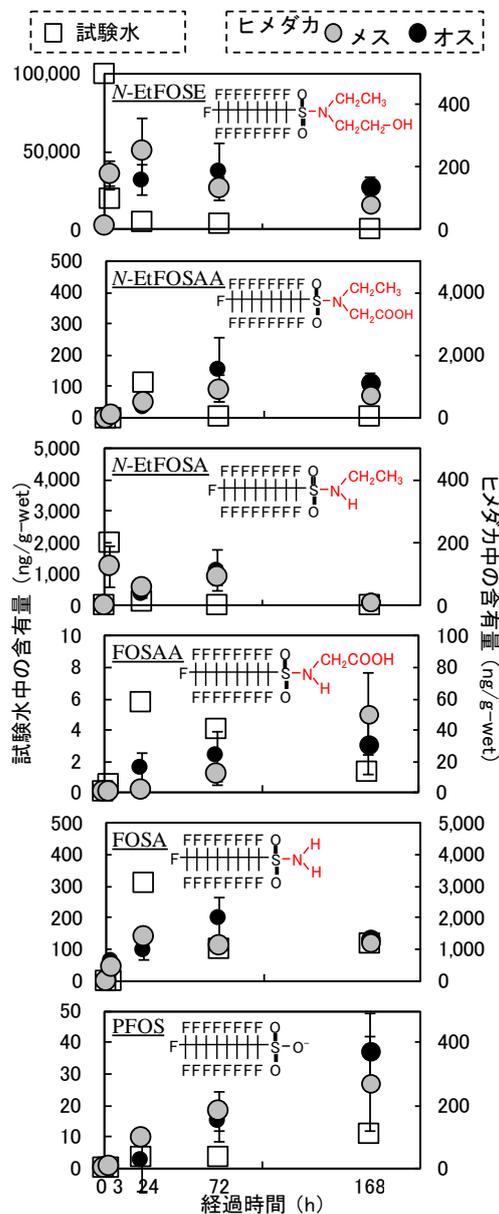


図 3. 曝露期における *N*-EtFOSE と生成化合物の濃度推移

である *N*-EtFOSE の濃度は、試験水中では曝露開始 3 時間後には添加時の 20.3%、24 時間後には 5% 以下の 4,700 ng/L となっていた。ヒメダカ中では 24 時間後までにメスで 253 ng/g、オスで 158 ng/g となり蓄積が進んでいたが、その後 168 時間後までにメスでは 82 ng/g、オスでは 139 ng/g まで減少していた。試験水中の *N*-EtFOSE 濃度の減少時期を考慮すると、ヒメダカの体内で *N*-EtFOSE が代謝されていたことが示唆された。同様に試験水中では *N*-EtFOSA が 3 時間後に 2,005 ng/L、*N*-EtFOSAA、FOSAA、FOSA が 24 時間後に各々 116、5.8、309 ng/L の極大濃度となり、その後減少したことから、ヒメダカへの移行、あるいは、さらなる代謝物への変換が起きたことが示唆された。PFOS は試験水中でも 168 時間後の 10.7 ng/L に至るまで徐々に濃度が上昇したが、ヒメダカ中の濃度上昇はオスで 373 ng/g、メスで 269 ng/g に至るほど大きく、ヒメダカ中に存在する PFOS は *N*-EtFOSE やその代謝物からの生成の寄与が大きいことが示唆された。また、無曝露期におけるモル存在量に着目すると、PFOS はヒメダカ中で 0.100、0.115、0.118 nmol と僅かに増加、試験水中では 0.027、0.093、0.156 nmol と顕著に増加した。これにより、メダカに蓄積されていた PFOS が試験水中に排出されていたことが示唆された。試験水中の 20 物質の合計モル存在量は実験終了時に至るまで 0.22、1.75、8.10 nmol と増加しており、ヒメダカ中でのモル量変化は僅かであったことから、*N*-EtFOSE から代謝された未知の生成物についても体外に排出されている可能性が示唆された。

以上、(1)～(4)の結果から考察された点を以下に簡潔にまとめる。

水環境中においては、PFCs よりも分子量が大きく、構造が複雑な前駆体が底質や水生生物等の媒体に蓄積しやすい傾向があり、また、生成した PFCs やその他の生成物が再度水中に排出されることが懸念される。したがって、PFCs の汚染問題においては、生成ポテンシャルを含めた排出量の削減が重要であり、あらゆる環境媒体中の動態を考慮した流域管理方法の構築が必要であると考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① 仲田雅俊, 鈴木裕識, 田中周平, 雪岡聖, 北尾亮太, 藤井滋穂: 琵琶湖・淀川流域における環境水中の全有機フッ素および構成ペルフルオロ化合物の存在実態, *土木学会論文集 G(環境)*, **vol.73**, No.7, p.III\_9-III\_16, 2017, (査読あり) [仲田雅俊, 第 54 回環境工学研究フォーラム論文奨励賞受賞]

- ② 仲田雅俊, 鈴木裕識, 田中周平, 雪岡聖, 北尾亮太, 藤井滋穂: 水環境中における全有機フッ素分析法の検討および琵琶湖・淀川流域の実試料への適用, *環境衛生工学研究*, **vol.31**, p156-159, 2017, (査読なし)
- ③ 鈴木裕識, 田中周平, 北尾亮太, 雪岡聖, 中田典秀, 藤井滋穂, 齋藤憲光: 都市河川流下過程における PFCAs 生成ポテンシャルの底質への移行とその変化体の蓄積, *土木学会論文集 G(環境)*, **vol.72**, No.7, p.III\_45-III\_53, 2016, (査読あり)
- ④ 北尾亮太, 田中周平, 鈴木裕識, 雪岡聖, 藤井滋穂, 中田典秀: 下水処理水中に含まれるペルフルオロ化合物類およびその前駆体の河川流下過程における挙動調査, *環境衛生工学研究*, **vol.31**, p165-168, 2016, (査読なし)

[学会発表] (計 7 件)

- ① Yuji SUZUKI, Ryota KITAO, Shuhei TANAKA, Satoru YUKIOKA, Satomi MIZUKAMI-MURATA, Fumiaki OGAWA: Formation of PFOS and other metabolites from *N*-Ethyl Perfluorooctane Sulfonamidoethanol (*N*-EtFOSE) during an exposure experiment to Japanese Medaka, the 38th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (DIOXIN), 2018 年 8 月 26-31 (abstract accepted, Peer-reviewed), Kraków (Poland)
- ② 鈴木裕識, 北尾亮太, 田中周平, 雪岡聖, 村田里美, 小川文章: ヒメダカに対する *N*-Ethyl Perfluorooctane Sulfonamidoethanol (*N*-EtFOSE) 曝露試験と PFOS の生成, 第 27 回環境化学討論会, 2018 年 5 月 23 日, 沖縄県市町村自治会館 (沖縄県那覇市) [鈴木裕識: 第 27 回環境化学討論会 優秀発表賞受賞]
- ③ 鈴木裕識, 田中周平, 雪岡聖, 藤井滋穂, 北尾亮太: 沖縄県内の河川魚類中からの PFOS 前駆体とみられるポリフルオロアルキル化合物の定性分析, 第 20 回日本水環境学会シンポジウム, 2017 年 9 月 26 日, 和歌山大学 (和歌山県和歌山市)
- ④ Yuji SUZUKI, Shuhei TANAKA, Ryota KITAO, Masatoshi NAKADA, Satoru YUKIOKA, Suwanna Kitpati BOONTANON, TRAN Van Quang, Shigeo FUJII: Occurrences of Perfluoroalkyl Substances and Their Total Oxidisable Precursors Assay in Aquatic Biota in Thailand, Vietnam and Japan, the 37th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (DIOXIN), 2017 年 8 月 23 日, Vancouver (Canada)
- ⑤ Ryota KITAO, Yuji SUZUKI, Shuhei TANAKA, Shigeo FUJII, Satoru YUKIOKA, Yoshiki NABETANI, Toru YOKOTA:

Survey on Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Aquatic Biota in Okinawa, Japan -Is *N*-ethyl perfluorooctane sulfonamidoethanol related to formation of PFOS in Fish?-, the 37th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (DIOXIN), 2017年8月21日, Vancouver (Canada), (Peer-reviewed)

- ⑥ 北尾亮太, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂, 雪岡聖, 與古田亨: 沖縄県内の河川におけるペルフルオロ化合物類とその前駆体の生物への蓄積量調査, 第51回日本水環境学会年会, 2017年3月16日, 熊本大学 黒髪キャンパス (熊本県熊本市)
- ⑦ 鈴木裕識, 田中周平, 藤井滋穂, 雪岡聖, 北尾亮太, 鍋谷佳希, 齋藤憲光: 国内で水揚げされた魚介類中におけるペルフルオロ化合物類生成ポテンシャルの存在量調査, 第19回日本水環境学会シンポジウム, 2016年9月14日, 秋田県立大学秋田キャンパス (秋田県秋田市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鈴木裕識 (SUZUKI, Yuji)

国立研究開発法人土木研究所・水環境研究グループ (水質)・研究員

研究者番号: 20762272