

琵琶湖・淀川水質保全機構 平成29年度 調査研究成果報告会  
2018/3/8

### 全有機ハロゲン化合物の水環境における存在実態調査と淡水藻類を用いた生態リスク評価

写真  
本研究で使用した  
燃焼-イオンクロマトグラフィー装置

写真  
ムシカツキモの  
生長阻害試験に用いた  
マイクロプレート

京都大学大学院 地球環境学 藤井滋穂  
田中周平  
(代理発表 土木研究所 鈴木裕識)

### 様々な有機フッ素化合物が存在

4/36

PFCs PFC-FPs 前駆体 有機フッ素化合物

既存研究  
(PFCs12種、PFC-FPs、前駆体16種)

60,000種類以上  
(GuideChemにおいて  
"fluoro"で検索)

農業、医薬品などに使われるものも

本研究  
全有機フッ素  
(Total Organic Fluorine: TOF)を測定

### 有機フッ素汚染物質

2/36

■ ペルフルオロ化合物類(PFCs)

- 難分解性・高蓄積性・毒性  
(Lau et al., 2007)
- 水環境中に幅広く存在  
(Saito et al., 2004)

水道水について新たな健康指針値が発表(2016年5月)  
(U.S.EPA) 2016 May: New Drinking Water Health Advisory

EPA  
United States  
Environmental Protection  
Agency

FACT SHEET  
PFOA & PFOS Drinking Water  
Health Advisories

To provide Americans, including the most sensitive populations, with a margin of protection from a lifetime of exposure to PFOA and PFOS from drinking water, EPA established the health advisory levels at 70 parts per trillion. When both PFOA and PFOS are found in drinking water, the combined concentrations of PFOA and PFOS should be compared with the 70 parts per trillion health advisory level. This health advisory level offers a margin of protection for all Americans throughout their life from adverse health effects resulting from exposure to PFOA and PFOS in drinking water.

https://www.epa.gov/sites/productions/files/2016-05/documents/drinkingwaterhealthadvisories\_pfoa\_pfos\_5\_19\_16.final\_1.pdf

PFOA・PFOS同時検出の場合、複合最大濃度値を70ng/Lと設定

規制の厳格化によりPFOS・PFOAの汚染低減が予想される

### 昨年度(H28年度)の研究成果

5/36

全有機ハロゲン分析手法を用いた  
未知の有機フッ素化合物類の汚染分布調査

まとめ 分析法の検討・開発

- 水試料で定量下限値92 ng/Lの測定が可能に

琵琶湖・淀川流域調査

- PFCsの汚染が多様化している現況を確認
- 水環境中でPFCsの約10倍の その他の有機フッ素の存在を確認

次の展望

種々の環境媒体中の有機フッ素汚染

PFCsに関する知見がほとんど ⇒ PFCs生成ポテンシャル・全有機フッ素の汚染データの蓄積が必要

有機フッ素化合物の包括的な健康・生態リスク評価手法の確立

得られた汚染データの評価が困難 ⇒ 未知の化合物を含む(全有機フッ素)リスク評価手法の導入が必要

### PFOSやPFOAを生成する前駆体の汚染状況は?

3/36

既往研究の課題

- 標準品のある前駆体のみを対象
- 既知の前駆体は600種以上(OECD, 2006)
- 分析法が確立されているのは30-40物質

環境中に存在する前駆体の種類や量に関する知見が不足

PFCs生成ポテンシャル(PFC-FPs)評価手法

定義

試料中に存在する前駆体から生成するPFCs

PFCsの前駆体・・・多種多様、分析法が未発達

分析法が確立されているPFCsに変換

(処理後のPFCs濃度) - (処理前のPFCs濃度) = PFCs生成ポテンシャル濃度

前 生成ポテンシャル 後

### その他の有機ハロゲン化合物も対象に

6/36

- 全有機塩素化合物類(TOCl)
  - 塩素消毒、トリハロメタン生成ポテンシャル等と関連した研究報告例が多い
- 全有機臭素化合物類(TOBr)
  - TOClと同様に塩素消毒関連の研究報告例が多い
  - 臭素化消毒副生成物が塩素化消毒副生成物より数百倍毒性が高いという報告  
(Plewa and Wagner, 2009)
- 全有機ハロゲン化合物類(TOX)
  - 塩素消毒された水試料の毒性評価値とTOX濃度に高い相関があるとの報告  
(Richardson et al., 2007)
  - 既往の分析方法(電量滴定法)の関係から、全有機ハロゲン(TOX)をTOFを除いた指標として評価した報告例がほとんど

水環境中のTOF、TOCl、TOBrを同時に対象とした研究報告例がない

### 研究の目的 7/36

- ①水環境中(琵琶湖・淀川流域)における全有機ハロゲン化合物の汚染現況の把握
- ②淡水藻類を用いた生長阻害試験による流域中の環境水の生態リスク評価

研究のイメージ図

TOF, TOCl, TOBr

琵琶湖

桂川

安威川

淀川

宇治川

30 km

汚染現況データ

ムレミカヅキモ

生長阻害試験

### 新たな対象にTOClとTOBr 10/36

強度

ハロゲン化(F,Cl,Br)ベンゼン 10,000 ng 導入時のピーク

RT(分)

本研究で新たに対象とした

	TOF	TOCl	TOBr
検出下限値 (ng/L)	28	646	40
定量下限値 (ng/L)	92	2,116	132

3種TOXの分析法を琵琶湖淀川流域において適用

### 琵琶湖・淀川流域調査 8/36

調査概要

対象	実施日(2017年)
琵琶湖	9月5日
淀川流域	11月28日
安威川	11月28日

琵琶湖

桂川

安威川

淀川

宇治川

30 km

試料

- 河川 (n=45)
- 湖 (n=9)
- ◆ 下水処理場 (n=14)

### PFCs分析フロー 11/36

●前処理・測定の手順

<PFCs・前駆体>

水試料

ろ過(GF/B:1μm)

溶解態

懸濁態

固相抽出 (Oasis WAX)

振とう抽出 (MeOH)

溶出・定容 (0.1MNH<sub>4</sub>MeOH+MeOH)

クリーニング (EtOH+MeOH)

クリーニング (EtOH+MeOH)

酸化分解処理 (Mili-Qでメタアップ)

酸化分解処理

選別 (窒素+ヒート)

固相抽出 (Oasis WAX)

溶出・定容 (0.1MNH<sub>4</sub>MeOH+MeOH)

分析 HPLC-MS/MS

分析 HPLC-MS/MS

●生成ポテンシャル (PFCs-FPs分析)

酸化分解処理

- ・酸化剤 (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 60 mM)
- ・アルカリ条件 (NaOH 150 mM)
- ・95°C, 24時間 (オートクレーブ)

定量限界値 (LOQ)

- ・PFCs: 0.12~0.64 ng/L
- ・前駆体: 0.72~43.0 ng/L

検出限界値 (LOD)

- ・PFCs: 0.04~0.19 ng/L
- ・前駆体: 0.22~12.9 ng/L

### 全有機ハロゲン分析 9/36

水試料

NaNO<sub>2</sub>(0.2 mol/L) 添加

SPE 活性炭

無機ハロゲンの除去

活性炭-TXAPP(三菱化学アナリティック製)

過渡条件: 5 mL/min, 25°C

NaNO<sub>2</sub>(0.2 mol/L) 50 mL過渡

分析

試料導入部	機器	ABC(三菱化学アナリティック)
燃焼ユニット	機器	AQF-100(三菱化学アナリティック)
	燃焼温度	900-1,000°C
	Arガス	200 mL/min
	O <sub>2</sub> ガス	400 mL/min
吸収ユニット	機器	GA-100(三菱化学アナリティック)
	吸収液	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.1ppm)
		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (3ppm)水溶液
	吸収液量	5 mL
イオンクロマトグラフ	機器	ICS-2000(Dionex)
	カラム	IonPac AS20(Dionex)
	カラム温度	35°C
	導入試料量	1,000 μL

燃焼イオンクロマトグラフィー (Combustion Ion Chromatography)

前処理の様子

TXAPP

AQF-100

GA-100

ICS-2000

### 結果 全有機フッ素(TOF)濃度分布 12/36

全68地点のうち54地点で定量、67地点で検出

流下過程において濃度が増加する傾向

顕著に高濃度

全有機フッ素濃度 (ng-F/L)

琵琶湖 流入河川

琵琶湖 湖水

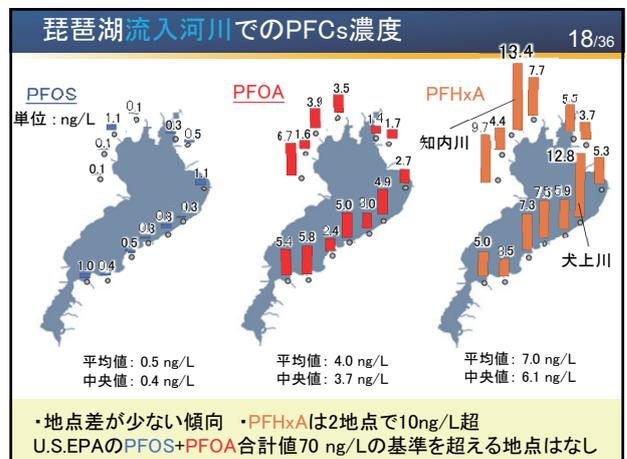
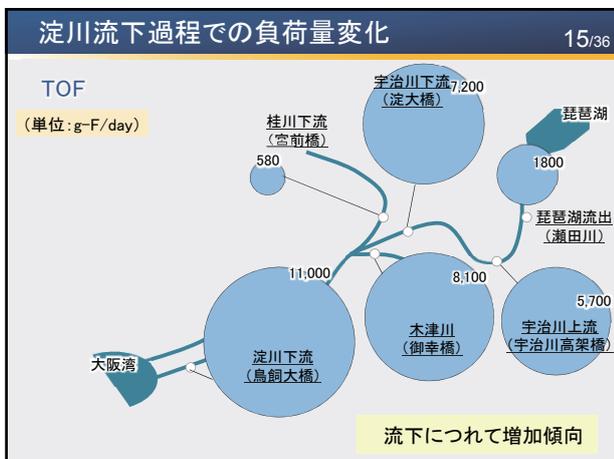
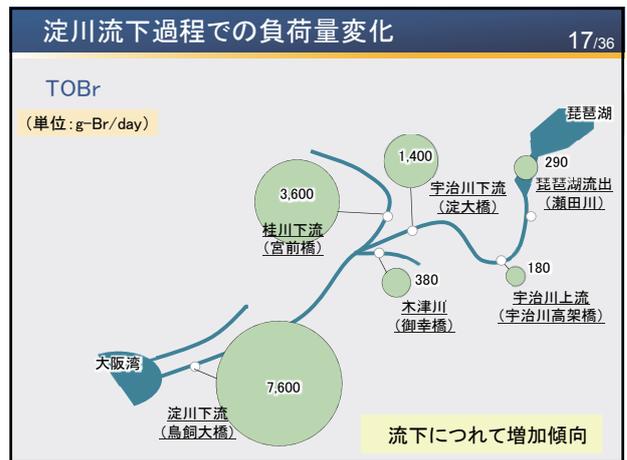
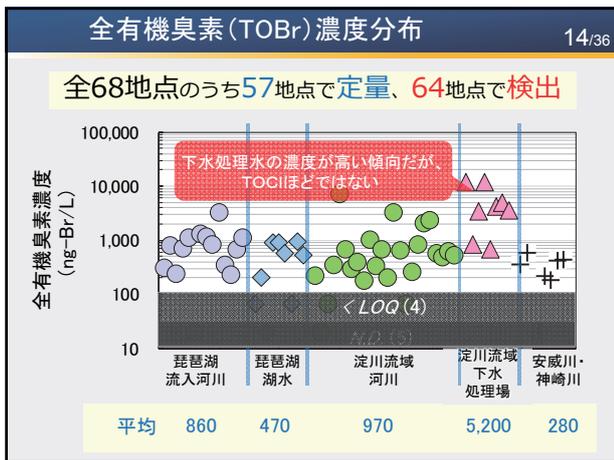
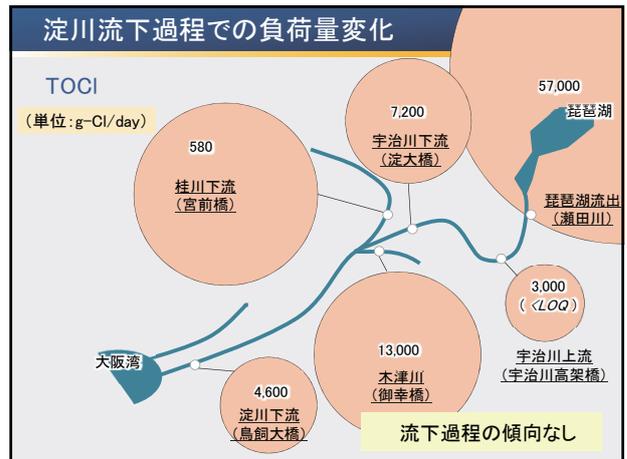
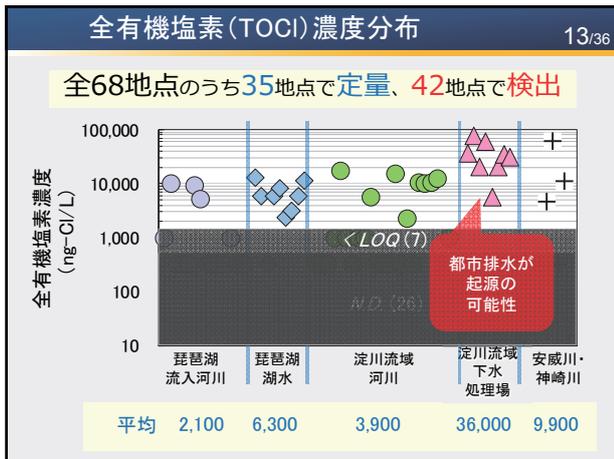
淀川流域 河川

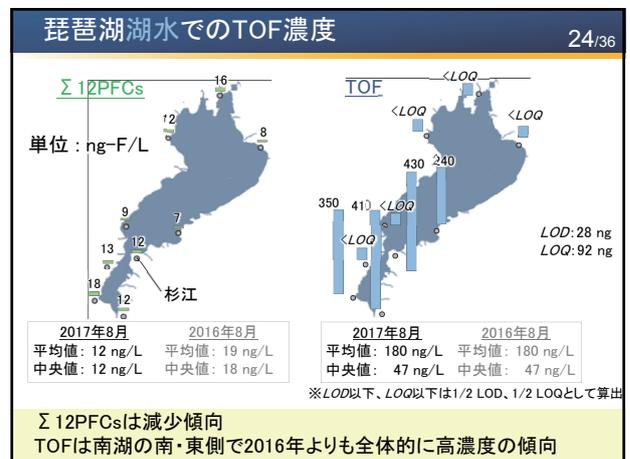
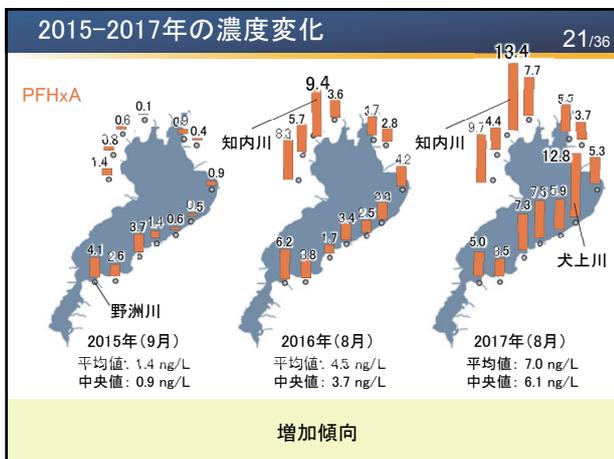
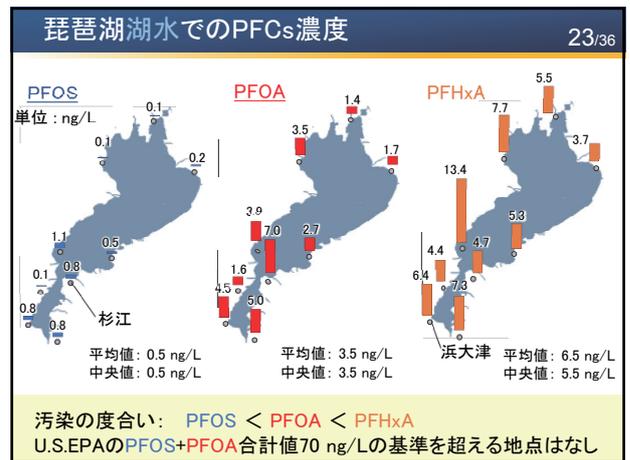
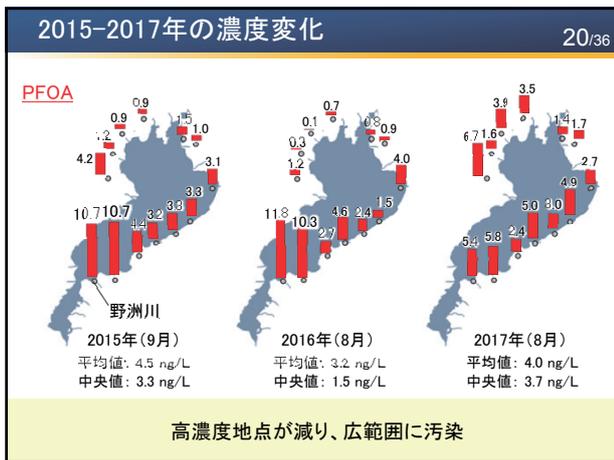
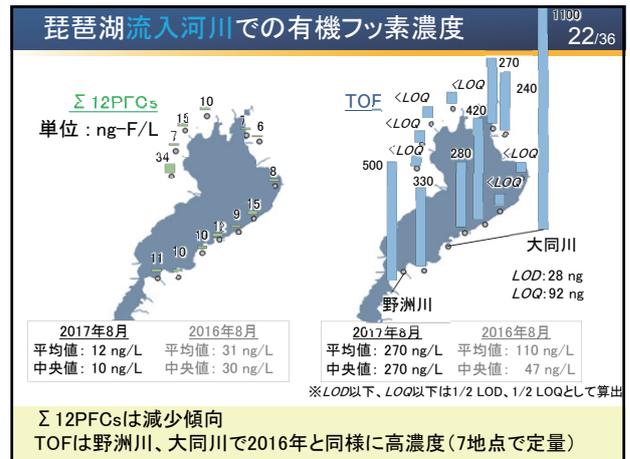
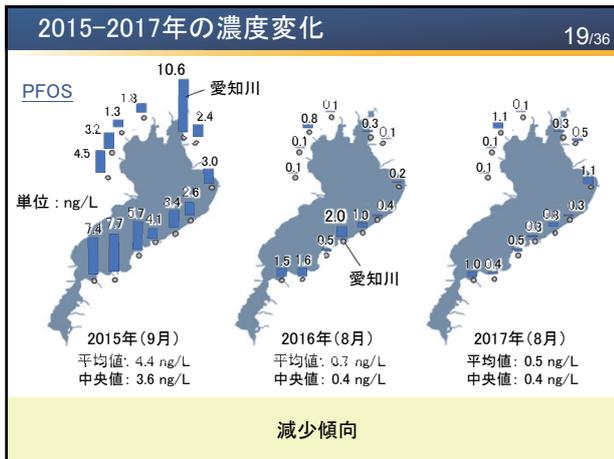
淀川流域 下水処理場

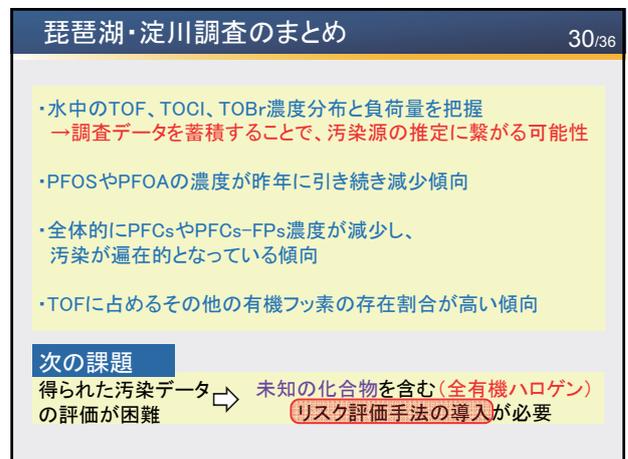
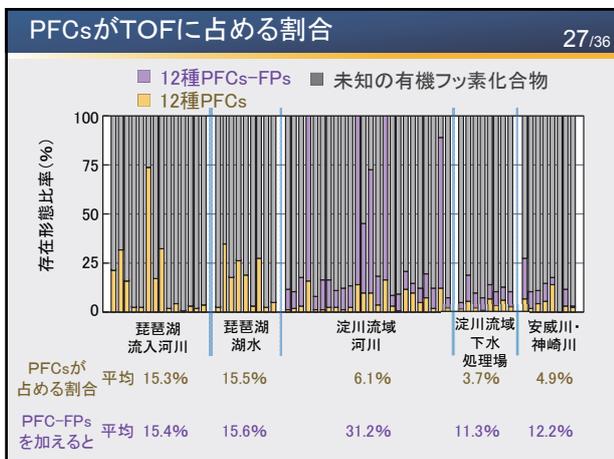
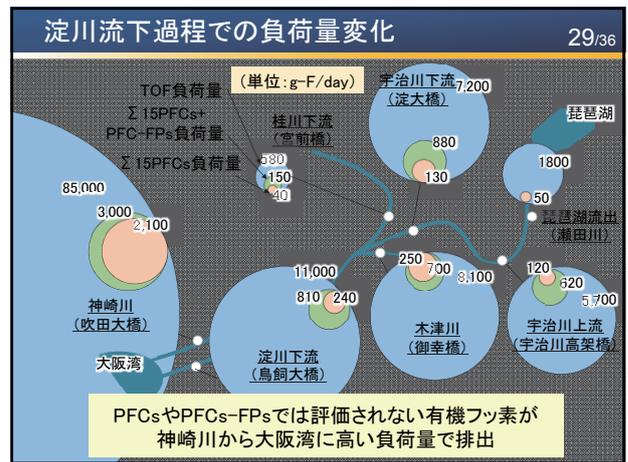
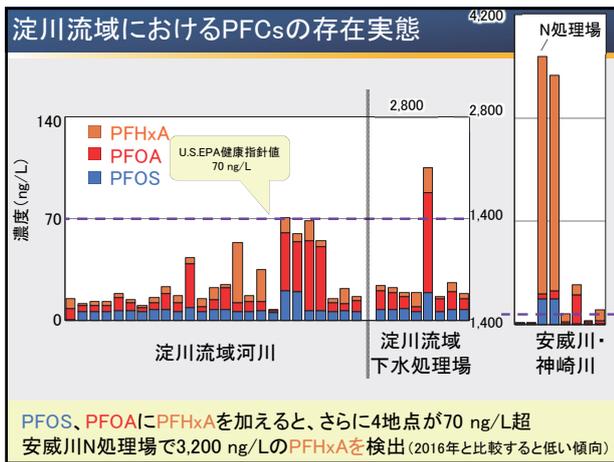
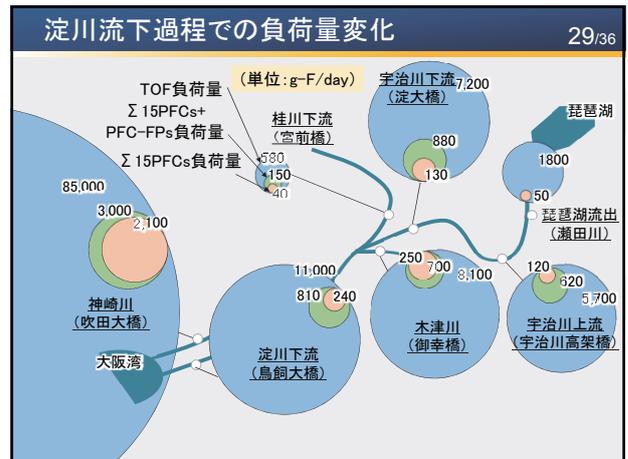
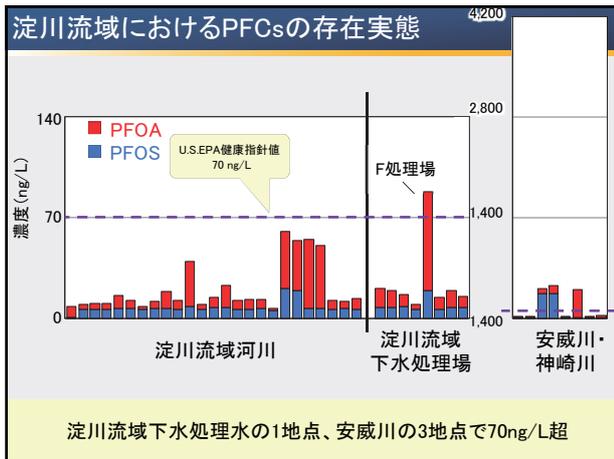
安威川・神崎川

平均 (ng/L)

琵琶湖 流入河川	琵琶湖 湖水	淀川流域 河川	淀川流域 下水処理場	安威川・神崎川
270	180	580	1,100	22,600







### 生物応答を利用した排水管理手法 31/36

個々の化合物に固有の物性や毒性などの情報、個別の化学物質の機器分析だけでは、実環境試料の生態リスク・健康リスクの総合的な評価には限界がある。

環境水は何が入っているかわからないブラックボックス

生物への毒性影響を通して総体として評価(複合影響を判定)

生物応答を利用した排水管理手法 (Whole Effluent Toxicity: WET) で用いられる生物種

ニセネコゼミジコ    ゼブラフィッシュ    ムレミカヅキモ

実験内容  
...3日間の培養中の細胞数の増殖をモニタリング

### 本調査で高濃度で検出されたPFHxA添加試験 34/36

**A7**  
生長阻害率: 8.0 ng/L  
PFHxA濃度: 140 ng/L  
TOF濃度: 72,000 ng/L

**A3**  
生長阻害率: -3.0 ng/L  
PFHxA濃度: 3,200 ng/L  
TOF濃度: 55,000 ng/L

下水処理水等の成分が添加物質の影響を軽減している可能性

### ムレミカヅキモを用いた生長阻害試験 32/36

96穴マイクロプレート  
利点: 必要試料量が少ない、試験現場の小スペース化

ムレミカヅキモ  
対数増殖期の細胞

試験条件

暴露方式	止水式
試験期間	72時間
対照区、希釈水	脱塩素水
培地	AAAP培地
換水	なし
使用量/容器	200μL/96穴マイクロプレート
くりかえし数	6連(対照)、5連(試料)

各穴にムレミカヅキモを入れ、24℃で3日間培養

マイクロプレートリーダーにより細胞の増殖量を測定(450nm)

生長速度から生長阻害率(%)の算出

### ハロゲン化合物の生長阻害率の検討 35/36

添加物質: ナフタレン, ナフタレン-Cl, ナフタレン-Br

※試験水は全て減菌水

ハロゲン化することで環境残留性が増すという報告も (Horii et al (2009))

ハロゲン化した物質の方が生長阻害率が高い傾向

### 結果 淀川流域の20試料 33/36

河川水: K1,K5,K6,U1,U3,U5, U6,U9,A2,A7,D6,D8  
下水処理水: K2,K7,K8, K9, U2,U7, U8,A3

試料: 河川 (n=12), 下水処理場 (n=8)

生長阻害率(%)

中央値 3.4 (河川水), 中央値 0.2 (下水処理水)

下水処理水の生長阻害率は低い値となる傾向

### まとめ 36/36

全有機ハロゲン化合物の水環境における存在実態調査と淡水藻類を用いた生態リスク評価

琵琶湖・淀川調査

- PFCSやPFCs-FPs濃度が減少し、その他の有機フッ素濃度が増加傾向
- 水中のTOF, TOCl, TOBr濃度分布と負荷量を把握

藻類生長阻害試験

- 淀川流域20試料の生長阻害率を把握、下水試料は化学物質濃度と比較し低く評価される傾向
- ハロゲン化された物質は元物質と比較して生長阻害率が高い傾向

今後の展望

- 全有機ハロゲン化合物の汚染データの蓄積
- 全有機ハロゲン化合物の健康・生態リスクの評価に繋がる試験の実施

## 謝辞

本研究は

- ・琵琶湖・淀川水質保全機構さまからの援助を受けました。
- ・採水や流量情報の御提供などについて、  
下水処理場、河川事務所のみなさまから協力を受けました。
- ・現地での調査サポートについて、  
帝人エコサイエンス株式会社の協力を受けました。

- ・採水、流量観測、化学物質濃度測定を  
京都大学の大学院生の雪岡聖さん、北  
尾亮太さん、仲田雅俊さん、  
Wu Chaoさん、学部生の松川桜子さん、  
タイ国マヒドン大学からの特別聴講学生  
のSuratsawadee Sukeesanさんにご  
協力いただきました。

ご清聴ありがとうございました

