

Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

変換過程を考慮した人為由来化学物質の管理手法に関する研究

(課題番号 5-1653)

平成 28 年度～平成 30 年度

Study on the Management of Anthropogenic Chemicals with the Consideration of Their
Transformation Processes

国立保健医療科学院 越後 信哉

令和元年 5 月

目 次

I. 成果の概要	・・・・・・・・・・1
1. はじめに（研究背景等）	
2. 研究目的	
3. 研究方法	
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	
II－1 浄水処理における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と 体系化 要旨	・・・・・・・・・・15
1. はじめに	
2. 研究目的	
3. 研究方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	
8. 引用文献	
II－2 下水処理における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と 体系化 要旨	・・・・・・・・・・33
1. はじめに	
2. 研究目的	
3. 研究方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	

8. 引用文献

II－3 河川環境における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と 体系化 要旨	・・・・・・・・・・ 53
1. はじめに	
2. 研究目的	
3. 研究方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	
8. 引用文献	
III. 英文 Abstract	・・・・・・・・・・ 70

I. 成果の概要

補助事業名 環境研究総合推進費補助金（平成 28 年度～平成 30 年度）

所管 環境省 及び 独立行政法人 環境再生保全機構

研究課題名 変換過程を考慮した人為由来化学物質の管理手法に関する研究

課題番号 5-1653

研究代表者名 越後信哉（保健医療科学院）

国庫補助金実績額 108,603,781 円（うち平成 28 年度：36,815 千円，平成 29 年度：36,815 千円，平成 30 年度：34,974 千円）

研究期間 平成 28 年 6 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日

本研究のキーワード 消毒副生成物，前駆物質，中間生成体，フルオロ，流域規模化学物質管理

研究分担者 田中周平（京都大学）
中田典秀（京都大学）
浅田安廣（国立保健医療科学院）

1. はじめに（研究背景等）

人為由来化学物質の環境・健康リスク評価は，水処理プロセスおよび環境中での変換生成物の重要性が指摘されてはいるものの，一部の例外を除き，原体の評価に限定されてきた。しかしながら，これらの物質の水処理過程・環境中で変換された場合の環境・健康リスクについても十分考慮する必要がある。平成 24 年の利根川水系におけるヘキサメチレンテトラミンが浄水処理過程でホルムアルデヒドを生成した事案は，このような懸念が顕在化した例と考えられる。一方で，この事故への環境政策上の対応は，ホルムアルデヒドに限定されており，様々な有害物質への対応が求められているところである。同様の副生成物として，*N*-ニトロソジメチルアミン（NDMA）について諸外国では基準値等が設定されているが，日本では要検討項目として取り上げられているに過ぎない。工業用化学物質については，世界的にも平成 21 年のストックホルム条約においてペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)（炭素鎖 8）とその類縁化合物 PFOSF が附属書 B に指定され，その後産業界では代替化合物への移行が進んでいるが，これらの代替物質が水処理プロセスや環境中で，PFOS 等の既知の有害物質に変換される可能性が懸念されている。

ある化学物質が，環境中や水処理プロセスで変換を受けて，より有害な物質に変換されうるかを構造式から予測することは難しい。これは，変換反応が多段であり，また分岐するため，さらには複数の変換過程が関与するためである。また，逆にある有害物質が検出された場合に，元の物質（前駆物質）を推定することも同様の理由により困難である。

以上の状況を踏まえ本研究では，これまで毒性が指摘されているにもかかわらず，人為由来化学物質からの変換過程に関する十分な情報が得られていない有害物質として，ハロ酢酸(HAAs)，ペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)，ペルフルオロオクタン酸(PFOA)，*N*-ニトロソアミン類，アルデヒド類を取り上げ，生成能試験を用いて重要な前駆物質の化学的特徴を明らかにするとともに，生成機構の一般化を試み，予見的な化学物質管理に必要な情報収集の方法を例示するとともに，生成能試験で考慮すべき因子や前駆物質構造の推定手法の提案を行うこととした。

2. 研究開発目的

本研究では変換過程を踏まえた多種・新規の化学物質の網羅的な管理・包括的なリスク評価に関する環境政策に資するべく、多様な化学物質について下水処理、河川環境、浄水処理を想定し、対象とする有害物質の生成能を評価する。あわせて変換経路を推定しその類型化を図る。さらに分画手法、高分解能質量分析計による既知および未知の前駆物質の同定手法を開発・応用し、これらの知見を総合して予見的な化学物質管理に必要な情報収集の方法を例示するとともに、生成能試験で考慮すべき因子や前駆物質構造の推定手法の提案を目的とする。

具体的には、前駆物質候補（PRTR 物質、有機フッ素化合物類（PFCs）、医薬品類（PPCPs）等）を対象に、有害物質（ペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)、ペルフルオロオクタン酸(PFOA)、*N*-ニトロソアミン類、ハロ酢酸(HAAs)、アルデヒド類等）について、下水処理、河川環境、浄水処理の各工程を模した環境条件（下水処理として生物処理、河川環境として生分解、光分解、浄水処理としてオゾン、塩素処理）における重要な化学構造を抽出する。また、その反応機構に関する情報を収集する。この後、実際の下水流入水、下水放流水、河川水に対してそれぞれのプロセスを模擬した生成能試験に基づき、実際に寄与率の高い前駆体の探索法を開発しそれを応用する。最終的には上記の有害物質について前駆体として重要な化学構造・特性を提示する。あわせて、この作業を通じて、実際の変換過程を十分に考慮した生成能試験のあり方について述べる。

サブテーマ（１）では浄水処理における酸化分解反応にともなう HAAs の生成を、サブテーマ（２）では下水処理における生物反応にともなう PFOS および PFOA の生成を、サブテーマ（３）では河川環境・下水処理過程における光分解反応、生分解反応等による *N*-ニトロソアミン類およびアルデヒド類の生成を主な検討対象とし、最終段階では各サブテーマからの情報を統合して、変換過程を考慮した化学物質管理のあり方に資する情報を提供する。

3. 研究方法

(1) 浄水処理における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と体系化（サブテーマ 1）

サブテーマ 1 ではまず人為由来化合物の上水塩素消毒過程におけるハロ酢酸生成能 (HAAFP) データベースを構築した。主な対象は PRTR 対象物質 155 物質を中心とした約 200 物質である。対象物質 DOC=3 mg/L, 塩素注入率=30 mg/L, pH 7.0 にて 24 時間後の生成濃度を評価対象とした。あわせて、複数の変換過程の例として、生物処理（活性汚泥との 24 時間接触）と塩素処理、オゾン処理と塩素処理の組み合わせによる HAAFP を上記の 155 物質のうち、極端に生成能が低い物質を除外した 51 物質について評価した。実験に用いた活性汚泥は、実際の下水処理施設のもので、活性汚泥中の溶存有機物を除去するため、0.9% NaCl 溶液を用いた遠心分離と再懸濁を 3 度繰り返した後に、対象物質と接触させ、希釈後塩素添加を行った。オゾン処理は半回分式（セミバッチ）式の反応装置を用い、オゾン注入率は 10 mg/L とした。フェノールの塩素処理によるハロ酢酸生成経路に関する検討のためにイプソ位の炭素が ^{13}C で標識化されたフェノール($1\text{-}^{13}\text{C}$)と、オルト位の炭素がいずれも ^{13}C で標識化されたフェノール($2,6\text{-}^{13}\text{C}_2$)の塩素処理において生成する HAAs 等の分析を行った。さらに、環境水や下水処理水に含まれる HAAs 前駆物質の特性解析のために分画後塩素処理し、HAAFP の高い画分の特定とその特性解析を行った。分画は、ろ過後の試料について、ロータリーエバポレーターで濃縮後、親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) により分画を行った。その後、各画分の濃度調整後塩素処理を行い、24 時間後に生成したハロ酢酸濃度を評価した。また、精密質量分析により生成能の高い画分の特性解析を行った。以上に加えて、*N*-ニトロソジメチルアミンの生成能を 31 の人為由来化学物質について

評価した。生成能試験は、初期濃度 0.1 mM, クロラミン:DOC 比=10, 反応時間=24 h, pH = 7.0 (5 mM リン酸緩衝液), 温度 = 20 °C にて行った。

(2) 下水処理における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と体系化 (サブテーマ 2)

下水処理における有機フッ素化合物を中心に検討を行った。まず、下水処理場への PFCs 前駆体の排出源のひとつとして化粧品に着目した。リキッド・パウダーファンデーション、化粧下地、日焼け止め、口紅、マニキュアなどの化粧品を対象に、さらに成分表示に「フルオロ」の記載のある 6 種 51 製品を調査対象とした。PFCs 生成能は、アルカリ条件下でペルオキシ二硫酸カリウム ($K_2S_2O_8$) を酸化剤としてオートクレーブで 95 °C にて 24 時間反応させた後の PFC 濃度と定義した。また、化粧品を対象に未知の PFCs 前駆体の探索を HPLC-QTOF (Agilent) を利用して行った。精密質量値/電荷比 (m/z) が 80~1,700 の範囲を対象に分析を行い、未知物質の構造の推定を行った。さらに、既知の類縁化合物類の Multiple reaction monitoring(MRM)条件から、未知物質の MRM 条件を検討し HPLC-MS/MS を用いて更なる探索を行った。あわせて下水処理施設における PFCs およびフルオロアルキルリン酸エステル類 (diPAPs) の挙動調査を琵琶湖流域の 5 つの下水処理場を対象に調査を行った。また、主に化粧品中の PFCs, diPAPs の分析結果を用いて、A 処理場における化粧品由来の PFCs, diPAPs の下水流入負荷量の推定を行った。さらに、好気条件下における PFCs 前駆体の生分解試験を 8:2diPAP の標準物質を添加した系 (Run-A) とフルオロ (C9-15) アルコールリン酸を含む化粧品を添加した系 (Run-B) を恒温恒湿装置内 (20 °C, 暗室) で実施した。加えて、沖縄県比謝川流域の PFCs 汚染の現況調査を行った。あわせて、添加前駆体として *N*-ethyl perfluorooctane sulfonamido ethanol (*N*-EtFOSE) を使用し沖縄県の地下水環境下での PFCs 生成経路の推定実験を行った。A 処理場で採取した返送汚泥液 50 mL と Milli-Q 水 50 mL を 125 mL の PP 製三角フラスコ内で混合し、全量を 100 mL (MLSS 2,000 mg/L) とした。8:2diPAP と化粧品は、それぞれメタノールに溶解し、8:2diPAP は 100 ng/L, 化粧品試料は 1 mg/L に調整した。実験容器は PP ボトルを使用し、空気が入らないよう満水になるまで実験水を入れパラフィルムをキャップに巻き、密閉状態を確保した。井戸水の系、井戸水に *N*-EtFOSE を添加した系の 2 系統を作成し、系統 2 では初期添加濃度を 5,000 ng/L とした。測定日は 2 か月間で計 5 回 (0,7,14,30,60 日) 行い、測定項目は 15PFCs, 15PFC-FPs, 16 前駆体とした。

(3) 河川環境における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と体系化 (サブテーマ 3)

N-ニトロソアミン類とアルデヒド類とその生成能を対象に、淀川水系の桂川、木津川、宇治川が合流する地点の上・下約 10 km の区間で調査を行った。具体的には、4 か所の処理施設(STP)の 5 つの放流口、河川本流の 7 か所と、その流域での支流の 5 か所で河川表層水、STP 放流水、下水等の採水を行った。また、流下過程における変化を把握するため、河川の一部地点において深夜にも採水を行った。さらに、京都市内のほぼ全ての下水を処理している流域内の 1 つの STP にて、処理工程毎の挙動把握調査を複数回行った。STP B には、2 つの処理系列があり、それぞれ別々の流入下水を処理し、別々の放流口 (K-S2 と K-S3) に放流している。得られた試料は *N*-ニトロソアミン類とアルデヒド類の分析と、一部の試料についてはそれらのクロラミンによる生成能試験を行った。検討の過程において、重要な前駆物質もしくは分解産物の存在が示唆されたため、適宜、ガスクロマトグラフ-タンデム質量分析計 (GC-MS/MS) もしくは液体クロマトグラフ (LC-MS/MS) にて定量を試みた。また、並行して LC-四重極飛行時間型質量分析計 (LC-QToF/MS) にて同定を試みた。STP B での観測結果を実証するため、処理場より採取した活性汚泥を用いた生物処理実験を行った。

流下過程における挙動把握調査における観測結果を立証するため、対象物質を純水もしくは河川水等に添加し、太陽光もしくは太陽光と同様の可視光波長範囲を有するランプにより、照射実験を行った。その際、都市の水循環における下水処理場での塩素処理、下水処理水放流後の太陽光照射を模した処理実験も行った。

4. 結果及び考察

(1) 浄水処理における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と体系化

まず、対象とした PRTR 対象物質 155 物質のハロ酢酸生成能 (HAAFP) の結果をまとめる (図-1)。全体的な傾向としては、モル変換率が極端に高い物質は存在せず最大で 30%程度であった。また、10%以上のモル変換率を示す物質は全体の 1 割未満、かつ主にフェノール性の化合物であり、限定的であった。この結果は、今回の対象物質群にはモル変換率の観点から直ちに浄水処理対応困難物質等の指定が必要となる化学物質が存在しなかったことを意味するが、HAAs については基準値が比較的低いため、後述のように変換率が低くても考慮が必要となる場合もある。

ジクロロ酢酸 (DCAA) 生成量とトリクロロ酢酸 (TCAA) 生成量の比較をすると、DCAA と TCAA の生成比率は物質によって異なるものの、総生成能の高い物質については特に TCAA の生成量が高く、ハロ酢酸の生成を議論するにあたっては TCAA の生成が重要であるといえる。また、一般的な傾向としては芳香環を含まない化合物は TCAA/DCAA 値が小さく、DCAA を主に生成することが分かった。一方で、芳香環を含む化合物は TCAA/DCAA 値が大きく、TCAA の生成が優位である。クロロ酢酸 (MCAA) については、ごく一部の物質を除いて、DCAA, TCAA のような生成は確認できなかった。なおハロ酢酸生成能と塩素消費量の間には明確な関係は認められなかった。構造によっては塩素と反応しても別の反応生成物変換された化合物も多数あり、構造情報と生成物の関係について精査する意義が確認できた。

以上の結果を用いて、水質基準で定められている HAAs の基準値との比較を行った。基準値は MCAA が 0.02 mg/L, DCAA および TCAA が 0.03 mg/L である。対象有機物の濃度は平成 24 年の利根川流域でのヘキサメチレンテトラミン流出事故時の最大濃度 (2 μ M) を想定すると、7 物質 (2,4,6-トリクロロフェノール, 2-クロロフェノール, 4-クロロフェノール, フェノール, ノニルフェノール, 3,4-ジクロロアニリンとクロロ酢酸エチル) が基準値を超過する可能性があり、フェノールやクロロフェノール類についてはフェノール類としての基準項目に含まれるが、これらに加えて芳香族アミンである 3,4-ジクロロアニリン等の重要な化学構造を抽出することができた。

生物処理が人為由来の化学物質の塩素処理によるハロ酢酸生成能におよぼす影響について評価した結果、一般的傾向として、TCAAFP の変化量の範囲は DCAAFP の変化量の範囲より大きかった。アクリル酸を除き、DCAAFP の変化量は、-54~+52 μ g/mg の範囲でほとんどが $\pm$ 20 μ g/mg の範囲に収まった。一方 TCAAFP については、特に減少側の変化量が大きいのものがいくつかあったことが特徴的である (-100 μ g/mg 前後)。ただし、フェノール類等元々の (活性汚泥との接触なしの) TCAAFP の高い化合物については、活性汚泥との接触後の TCAAFP は減少または変化がない傾向にあった。なお、DOC の測定の結果、1 時間程度の活性汚泥との接触では変化がなく今回対象とした物質が吸着される可能性は低いものと考えられた。芳香族アミンの

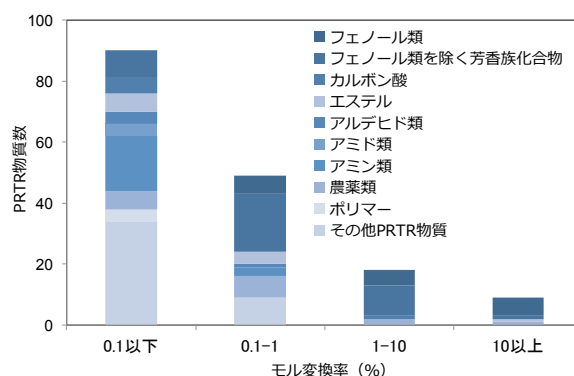


図-1 対象とした PRTR 対象物質 (155 物質) の塩素処理におけるハロ酢酸へのモル変換率の分類

TCAAFP および DCAAFP は多くの場合、活性汚泥との接触(24 h)で減少傾向が見られた。このうち最も変化が大きかったのが 3,4-ジクロロアニリンで DCAAFP と TCAAFP の変化量はそれぞれ-54 および-139 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ であった。

以上のことことから、人為由来化合物の塩素処理による HAAFP に対する生物分解の影響として、以下の 3 点に集約できる。(1) 元々の HAAFP が高い物質の HAAFP は活性汚泥との接触で減少傾向または不変であり、元々の HAAFP よりも高くなることはない。(2) 全体的な傾向として大幅な増加が認められた物質は限られている。(3) その中でもヒドロキノンとアクリル酸様の構造をもつ化合物には注意を要する。

オゾン処理と塩素処理を組み合わせた場合、芳香族アミンについて、HAAFP の変化量が大きかった (アミノフェノールを含む)。アミン類はオゾンと反応性が高く、何らかの化学的変換を受けやすいことから、この傾向は妥当なものと考えられた。また、共通の傾向として、塩素単独処理で FP が高いものがさらに高くなる場合はなかった。

以上、生物処理およびオゾン処理の影響をまとめると、複数の変換過程を組み合わせた場合に、塩素処理単独よりも HAAFP が増大することがあり、それぞれの組み合わせについて注意を要する化学物質 (生物処理の場合は、ヒドロキノンおよびアクリル酸様物質、オゾン処理の場合は一部の芳香族アミン) の特徴を抽出することができた。

同位体標識化フェノールを用いた反応機構に関する実験では、メタ位の炭素が TCAA の炭素骨格として重要であることを明らかにした。メタ位における炭素鎖分岐の有無が HAAFP を判断する上でも重要な指標となる可能性を示すことができた。

HPLC 分画と精密質量分析を組み合わせた溶存有機物中の HAAs 前駆体の特性評価では、環境水や下水処理水を HILIC により分画したのち、それぞれの画分について塩素処理を行い、TCAAFP を測定した結果、いずれの試料についても、23~25 分付近の画分で TCAAFP が最大となった。この実験で用いた HILIC による分画では、疎水性の化合物が先に溶出され、親水性の高い化合物ほど保持時間が長くなる。23~25 分付近の画分ではリン酸イオン等の無機イオンも溶出されていることが確認されており、極めて親水性が高い領域に TCAAFP のピークが存在することになる。これまで、HAAs の前駆体はどちらかといえばフミン酸やフルボ酸等の疎水性化合物が主体であると考えられていたが、それ以外にも無視できない超親水性溶存有機物が存在することを明らかにした。また、今回の調査では同一水系内の湖沼水、河川表流水、下水二次処理水の比較を行ったが、量的な差はあるものの、人間活動の影響の大小にかかわらず 23~25 分の画分で特に高い TCAAFP が認められ、これらの画分に前駆体が集中していると考えられた。また、異なる流域間の比較でも同様の傾向が確認された。これらのことから、水源や採水地点に関わらず、親水性の高い化合物が TCAA 前駆体として普遍的に存在することが示唆された。この画分について特性解析を行った結果、いくつかの窒素化合物が検出されたが、塩素処理前後の差異解析を行うと大きな変化は見られないため、反応部位はアミン様構造ではない可能性が高い。また、ネガティブモードで検出されたイオンが多かったことを踏まえると、カルボキシル基によって親水化したフェノール性化合物がハロ酢酸前駆体として重要な化学構造であることが示唆された。

PRTR 物質等の NDMA 生成能試験の結果、ラニチジン等 NDMA 生成能が高い既知の物質に比べると、PRTR 対象物質の生成能は低い傾向にあり、数 10%以上の高いモル変換率を示すものはなかった。また、モル変換率 0.1%以上の物質は 31 物質中 14 物質であった。また、ジメチルアミン構造にカルボニル基が隣接するアミドの NDMA 生成能は低い傾向にあるが (ほとんどが検出下限未満)、それにもかかわらず、DMCCI は例外でモル変換率が比較的高く (1.1%) 加水分解を経てジメチルアミンが生成するためであること、NDMA の生成能が高い化学構造はジメチルアミン構造を持ち、かつその β 位にアリル基やアルキル基が存在し、窒素原子の

電子密度が減少する官能基が隣接していない場合に限定されることを明らかにした。逆にジメチルアミン構造を持たない化学構造や存在しても電子吸引性の官能基が隣接している場合は前駆体の候補からは除外できると考えて良いことがわかった。

ハロ酢酸の場合と同様に、平成 24 年利根川水系でのヘキサメチレンテトラミンの流出事故と同レベルの水質事故(TOC として 0.144 mg/L)を想定した場合、31 物質中 15 物質(2-(ジメチルアミノメチル)チオフェン、5-[(ジメチルアミノ)メチル]-2-フランメタノール、*N,N*-ジメチルベンジルアミン、ラニチジン、*N,N*-ジメチルイソプロピルアミン、*N,N,N',N'*-テトラメチルエチレンジアミン、ジメチルカルバモイルクロリド、ジメチルアミン、トリメチルアミン、1-ジメチルアミノ-2-プロパノール、*N,N*-ジメチルスルファミド、メタクリル酸 2-(ジメチルアミノ)エチル、*N,N*-ジメチルホルムアミド、アクリル酸 2-(ジメチルアミノ)エチル、Cartap)が目標値(100 ng/L)を生成能として超過すると試算された。これらのうち、6 物質は PRTR 対象物質、3 物質は浄水処理対応困難物質であった。

以上、浄水処理困難対応物質の見直し等において、注目すべき構造を具体的に示すとともに、その反応機構、さらには複数の変換過程が組み合わさった場合の生成能の変化に関する新たな知見が得られ、流域全体での化学物質の管理・モニタリングの重要性、またその中に生成能試験を積極的に取り入れる意義を示した。

(2) 下水処理における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と体系化

6 種類 51 製品の化粧品中の PFCs 含有量と PFCs 生成ポテンシャル含有量を調査した結果、すべての製品から PFCs が検出され 15 種の PFCs の総含有量 ($\Sigma 15\text{PFCs}$) は 114~8,170 ng/g-wet であった(平均値 1,220, 中央値 457)。製品別ではパウダーファンデーションが他の 5 種と比較して有意に高い $\Sigma 15\text{PFCs}$ 含有量を示した (t 検定, $p < 0.05$)。同じくすべての製品から PFCs 生成ポテンシャルが検出され 15 種の PFCs 生成ポテンシャルの総含有量 ($\Sigma 15\text{PFC-FPs}$) は 42~93,200 ng/g-wet であった(平均値 9,120, 中央値 507)。製品別ではリキッドファンデーション、パウダーファンデーション、化粧下地から高い PFCs 生成ポテンシャル含有量を検出した。51 製品中 30 製品で PFCs よりも高い PFCs 生成ポテンシャル含有量が検出され、最大で 199 倍であった。PFCs と PFCs 生成ポテンシャル含有量の相関係数は 0.47 であり、正の相関があった。

炭素鎖長別の PFCAs と PFCAs 生成ポテンシャルについて、「フルオロ (C9-15) アルコールリン酸」を原料に含むパウダーファンデーションからは、炭素鎖長 5~12 の PFCAs 生成ポテンシャルが 732~4,623 ng/g-wet で検出された。一方、炭素鎖長 6 の「パーフルオロオクチルトリエトキシシラン」を含む口紅からは、炭素鎖長 6 のペルフルオロヘキサン酸 (PFHxA) と炭素鎖長 5 のペルフルオロペンタン酸 (PFPeA) の生成ポテンシャルが検出された。原材料に含まれる「フルオロ」を含む成分の炭素鎖長と検出された PFCs 生成ポテンシャルに占める同炭素鎖長の PFCs 含有量の特徴が類似したことから、「フルオロ」を含むこれらの成分が、PFCs の前駆体であることが示唆された。

$\Sigma 3$ diPAPs は 1,030~58,500,000 ng/g-wet であり、中央値は 416,000 ng/g-wet であった。ファンデーション、化粧下地、日焼け止め中の含有量は、6:2diPAPs 780~12,000,000 ng/g-wet、6:2/8:2diPAPs 226~39,900,000 ng/g-wet、8:2diPAPs 19~6,590,000 ng/g-wet であり、マニキュアと比較して高含有量であった。化粧品中の $\Sigma 15$ PFCs 含有量は 417~8,170 ng/g-wet であり、内訳は、PFHxA 39~2,170 ng/g-wet、PFOA 6~1,960 ng/g-wet、PFOS 4~28 ng/g-wet であった。

化粧品からは、6:2diPAP、6:2/8:2diPAP、8:2diPAP に加え、14 種の diPAPs と予想されるピークを新たに確認した。化粧品 ($n=23$) 中の 28 種の diPAPs の S/N を算出した結果、特に 6:2diPAP、6:2/8:2diPAP、6:2/10:2diPAP、8:2diPAP、8:2/10:2diPAP の S/N は 10 以上であり (23 製品中 20 製品)、「フルオロ (C9-15) アルコールリン酸」、「フルオロ (C8-18) アルコールリン酸」、「パーフルオロアルキルリン酸 DEA」の化粧品成分の主な化学物

質であった。これら製品中の PAPs は洗い流しにより、下水処理施設へ流入する可能性が考えられた。5 種類の PAPs を対象とすると、パウダーファンデーション (JPN8) から、76,800,000 ng/g-wet の PAPs を検出した。PAPs の環境中での変化を追うことは重要な研究課題であることが示された。

A 下水処理場における 3 種の PAPs の挙動を調査した結果流入水中の濃度はいずれも 12 ng/L であったが、最初沈殿池汚泥から 236~250 ng/L の diPAP がそれぞれ検出された。返送汚泥からも 80~97 ng/L の diPAP が検出されており、放流水中からは 1~2 ng/L であった。つまり、返送汚泥を通じて生物反応槽内で循環していることが示唆された。他の 4 つの下水処理場でも同様の傾向が見られた。また処理システムの物質収支から 6,140 mg/日が生物反応槽に流入した。返送汚泥から 32,197 mg/日の diPAPs が生物反応槽に循環しており、流入負荷量の 5 倍にあたる 42,600 mg/日の diPAPs が生物反応槽に存在することが読み取れた。

回分式実験の結果、8:2diPAP の添加系 (Run-A) における 8:2diPAP の半減期は 44 時間であった。「炭素鎖長 4~9 の PFCAs のモル量」を分子に、「添加した 8:2diPAP のモル量」の分母とした値をモル生成率 (%) とした場合、48 時間の生物分解によりモル生成率 4.0% の PFOA の生成が確認された。その他炭素鎖長 4, 5, 6, 7, 9 の PFCAs の生成も 1.0% 未満ではあるが確認された。化粧品添加系 (Run-B) における 10 種の diPAPs の残存率を調査した結果、すべての diPAPs 濃度は経過時間とともに減少し、最も分解速度が遅かった物質は 10:2diPAP であり、48 時間で 19% の分解率であった。化粧品添加系 (Run-B) における PFCAs 濃度の経時変化を調査したところ、特に PFHxA 濃度が上昇し、12 時間後には 2.7 ng/L となり、以降、48 時間後まで 2.9 ng/L であった。PFOA 濃度も徐々に上昇し

48 時間後には 1.6 ng/L となった。PFCs 中間生成体のモル生成率の経時変化を図-2 に示す。1~8 時間後まで 7:2sFTOH の生成率は上昇し、最大 32% まで上昇した。その後減少傾向となり 48 時間後には 4% となった。右図は気相中での経時変化を示す。7:2sFTOH の気相中での濃度は経過時間とともに上昇し、48 時間後にはモル生成率で 29% となった。つまり、汚泥中で 8:2diPAP から 7:2sFTOH に生分解し、その後、気相へと移行していることが示唆された。

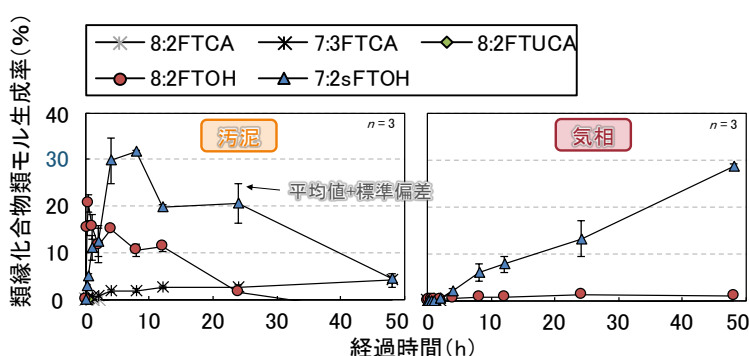


図-2 化粧品添加系における中間生成体のモル生成率の経時変化

比謝川周辺における調査では PFHxS, PFOS 濃度と PFCs 生成ポテンシャルが検出された。例えば大工廻川で PFOS 412 ng/L, PFHxS 164 ng/L, PFC-FPs 405 ng/L を検出した。また、地下環境を模擬して、沖縄県企業局井戸水を 30 日間 20℃暗所保存した結果、PFOS で 33 ng/L, PFHxS で 102 ng/L 上昇した。N-EtFOSE を添加した系では 30 日後に PFOA-FP が 368 ng/L, PFHpA-FP が 289 ng/L 上昇し、Σ15PFC-FPs では 795 ng/L 上昇した。N-EtFOSE は地下水環境において 30 日間で、主に PFOA, PFHpA の生成ポテンシャルに変わることが示唆された。

液体クロマトグラフィーイオンモビリティ型四重極飛行時間型質量分析計 (LC/IM-QTOF-MS, Agilent) を用いて、fragmentation flagging に基づいた未知の PFCs のノンターゲット分析手順を検討した。手順 1 では PFCs 標準物質をターゲット分析し、手順 2 において Fragment ions のデータベースを構築した。その後、手順 3 において実試料のノンターゲット分析を実施し、手順 4 では、Fragmentation flagging に基づいたピークを抽出、手順 5 ではイオンモビリティによる分子関連イオンの推定を行い、最終的に手順 6 において、推定された分子関連イオンのターゲット分析を行う手順とした。

この分析法の特徴は、イオンモビリティを用いて、分子関連イオンの m/z の推定を試みた点である。イオンモビリティとは、イオンの衝突断面積、つまりイオンの大きさ、形状、電荷、質量により分離する技術である。LC によるカラム分離を行った後に、イオンモビリティによる Drift time から再度分離することが可能である。さらに、イオンモビリティで分離後、コリジョンエネルギー(CE)により Fragment ion を生成するため、分子関連イオンと Fragment ion の Drift time が同じ時間を示すと考えられる。つまり分子関連イオンと Fragment ion を Drift time に紐づけすることができる。実際、PFASs の標準物質を対象に同様の検討を行った結果、すべての物質で分子関連イオンの m/z の推定が可能となり本手法の有効性が示された。また、本手法を沖縄県嘉手納基地近辺の大工廻川の試料に適用したところ、26 種の PFCs が検出され、その内、7 種類が PFHxS の前駆体であることが示された。本手順は未知の PFCs 前駆体の探索に適用できることが確認された。

以上、化粧品や消火剤の一部に PFOS, PFOA 等の前駆体が存在しており、下水処理場中の生物処理や地下水環境において、PFOS や PFOA 等に変換していることが示された。生物処理過程では、前駆体からアルコール体への変換が確認され、一部は大気に移行していることが確認され、本サブテーマにより、これらの前駆体の環境中での変換過程に関するデータを蓄積することができた。さらに、これまで困難であった未知の PFCs 前駆体を探索する LC/IM-QTOF-MS による手順を構築した。本手順を使用することで、水試料中の未知の PFCs 前駆体の探索が可能となった。

(3) 河川環境における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と体系化

河川および下水処理放流水の *N*-ニトロソアミン類について調査した結果 NDMA とアルデヒド類のホルムアルデヒド(FAH)とアセトアルデヒド(AAH)は、オゾン処理を行っている下水処理場(K-S1)でもっとも高濃度で検出された。全地点において FAH と AAH の濃度には高い相関関係が確認された ($R^2=0.63$) が、他の成分については確認されなかった。*N*-nitrosomorpholine (NMOR) については、他の塩素処理を行っている下水処理場(K-S3)で検出濃度・頻度が高かった。クロラミン処理による NDMA 生成能($\text{NDMA FP}_{\text{CINH}}$)は、上記 2 箇所の下水処理場放流水と、その放流地点の下流点(K-2M)で比較的高濃度であり、これらの流下・残留が示唆された。

下水処理水、桂川と淀川本川、その他の支川などの河川水採水地点における分析結果を、夏の日中と夜間、冬の日中と夜間に分け考察を進める。NDMA については、中央値で比べると下水処理水中の濃度が相対的に高かった。本川では、NDMA は夏季よりも冬季に高い傾向が確認された。NMOR についても同様に、放流水中の中央値は、夏季に比べ、冬季で高濃度だった。河川水中 NMOR 濃度は、冬季の夜間に高い濃度が検出され、日間および季節間変動が示唆された。

FAH については、NMOR 同様に放流水中で比較的高濃度であり、かつ冬季に高濃度になる傾向が確認された。NDMA FP_{CINH} については、日・季節間の差異は確認されなかったが、河川水中では夏季の日中が高い中央値を示し、冬季の日中が最も低く、一方夜間は同程度であった。

NDMA, NMOR, NDMA FP_{CINH} の放流負荷量が高い STP B において、処理工程毎の対象物質の存在実態調査を行った。NDMA については、生物反応槽の前後において、検出頻度と濃度の増加が確認された。STP B から採取した活性汚泥へ、*N*-ニトロソアミン類標準溶液を添加した実験(8 時間)では、NDMA と NMOR の生成や減少が確認されなかったことから、最終沈殿池からの汚泥返送過程における NDMA の生成と負荷が示唆された。返送汚泥をガラス繊維ろ紙(孔径 1.0 μm)でろ過し、固液分離した後にクロラミンによる生成能試験を行った結果、高濃度の NDMA FP_{CINH} が汚泥相より検出され、汚泥の返送が生物処理水、塩素消毒後の放流水中の NDMA の残留に寄与しているものと推察された。

NMOR については、消毒槽での濃度増加や生物反応槽での濃度の増減が確認されず、活性汚泥を用いた生分解試験においても濃度の増減が確認されなかった。そのため、流入水中濃度の経時変化を調査した。その結果、流入水中から最高 340 ng/L の NMOR が検出された。短時間に高濃度になる流入傾向が確認され、傾向を明瞭にするため、検出濃度と流入量の積である流入負荷量を算出した。その結果、2 回の調査日ともに夕方から深夜にかけて負荷量が高くなることが確認された。NMOR そのものの工業利用はないことから、NMOR の前駆物質がその発生源で変換して NMOR となったか、下水処理場への流入前までに変換した可能性が考えられる。

この結果に加え、これまでに生成能に関する報告が少ないこと、一方で国内での使用量と下水道や環境への排出量が多いことを考慮し、dimethylformamide (DMF) を対象に研究を進めた。DMF のクロラミンによる生成能を測定したところ、0.92% (つまり 1mol の DMF から 0.0092 mol の NDMA を生成) であった。下水処理過程における DMF の挙動把握を目的に、DMF の LC-MS/MS による分析法を確立し、STP B (K-S3 系列) における調査を行った。その結果、DMF は、NMOR と同様に夕方に比較的高濃度で下水処理場に流入するが、生物処理で効果的に除去されることが確認された。しかし、消毒槽では、濃度の上昇が確認され、DMF 自身が下水処理場の現行の消毒レベルにおける消毒副生成物であることが確認された。

高濃度の DMF が環境中に排出されていることが示唆されたため、河川においても DMF の存在実態調査を行うとともに、河川水を用いた光分解試験と生分解試験を実施した。その結果、光分解速度定数は $0.002 \sim 0.003 \text{ h}^{-1}$ であり、生分解による半減期は 250～310 時間であり、水環境中で安定的だと推定された。

前述の通り、DMF の NDMA FP_{CINH} は 1%未満と低い、使用量・環境への排出量が多く、下水処理過程で生成が示唆され、環境中で安定であることから、下水、下水処理水、河川水で検出された NDMA FP_{CINH} に対する DMF の寄与を算出した (図-3)。算出方法は、DMF の検出濃度、DMF の NDMA FP_{CINH} (0.92%) を乗じて算出した。下水中では、DMF の寄与率は低く、NDMA FP_{CINH} は低下するが、放流水、河川水と下流に向け寄与率の上昇が確認された。特に、STP B の下流に位置する桂川最下流部 (K-2M) では、冬季にその寄与率が上昇することが確認された。また、さらに下流に位置する枚方大橋 (Y-M) においても冬季に寄与率が高まる傾向が確認された。DMF の浄水工程における挙動や、NDMA FP については不明であるが、DMF が各産業において原料として多量に使用されていること、環境中濃度が高く、安定的であることから、DMF の残留に注視していくことが必要だと考えられた。

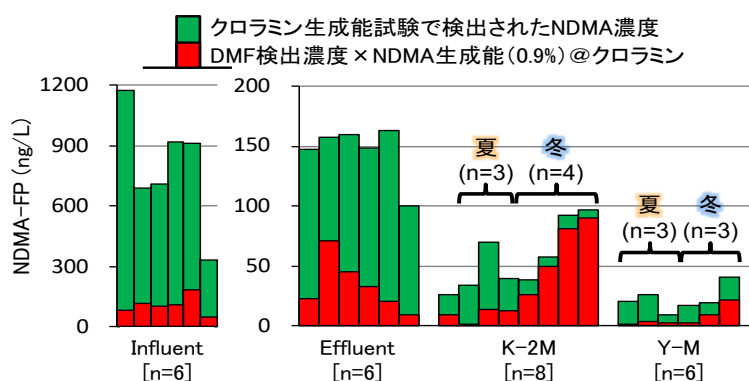


図-3 下水、下水処理放流水、桂川最下流部 (K-2M) および調査区間最下流部 (枚方、Y-M) の表層水中の NDMA FP_{CINH} に対する DMF の寄与

NMOR については、下水中にて高濃度で存在していることが確認された。前述の通り NMOR そのものの工業利用は無いことを考

慮すると、NMOR 前駆物質を使用している施設における NMOR の生成か、同施設から下水処理場までの間に NMOR が生成していることが予想される。可能性として morpholine (MOR) の FAH を触媒とした亜硝酸との N-ニトロソ化反応による MOR から NMOR の生成が考えられ、前述の通り、STP B (K-S3 系列) では、流入水中に高濃度の FAH の存在が確認されていること、また、STP B の管轄機関より、流入水中の亜硝酸濃度については、最大 0.1 mg-N/L と報告されていることより、MOR の LC-MS/MS による分析法の確立と、家庭排水と工業廃水の混合液である下水と、MOR の接触による NMOR の生成について検討を進めた。上記の

N-ニトロソ化反応について、反応温度と pH、亜硝酸と FAH の初期濃度の影響を確認した後、実条件に近い条件において、MOR の濃度と、反応時間を変え、MOR から NMOR への生成試験を行った。MOR と下水との接触に高濃度の NMOR 生成が確認され、接触時間が 1 日では、純水に人工的に亜硝酸と FAH を添加した試験区と同等の値を示した。このことより、MOR は下水に混入することにより、NMOR を生成する可能性が確認された。

NMOR は、調査対象流域において比較的高濃度で検出されている。そこで、生分解および光分解試験を実施した。その結果、生分解については確認されず、光分解が確認されたが、光分解に伴い MOR を生成（4～7%）することが確認された。生成した MOR については、光分解を示さず、安定的であった。

吸着や生分解、光分解等による変化を考慮した確率論モデルに、更に光分解の日変動を加味した光分解モデルへ本研究の対象物質に関するパラメータを代入して構築した。その結果、光分解と生分解の寄与を強く受ける NDMA、生分解の寄与を受ける FAH について、調査区間の上流から下流への到達割合（流達率）の予測値と実測値の間に良好な相関関係が確認された。特に、NDMA については、太陽光強度の日変動を考慮していない既存のモデルでは、実測値との乖離が大きく、本研究で改良したモデルが NDMA の流下点における濃度予測に有効であることが示された。

ヒスタミン H2 受容体拮抗薬として抗アレルギー薬などに使われる ranitidine は高い NDMAFP と光分解性が知られている。しかし、塩素化 ranitidine や、ranitidine 光分解物、塩素化 ranitidine の光分解産物が NDMAFP を残留しているかは不明である。そこで本研究では、ranitidine の塩素処理と光照射による NDMAFP の変化について実験を行った。その結果、ranitidine が塩素処理、光照射または塩素処理後の光照射によって生成した分解産物にも、NDMAFP が残存することが示唆された。このように、親物質（ranitidine）だけを監視していても、水処理や環境中で受ける作用により親物質の大部分が消失したとしても、有害物質生成能（NDMAFP）は残留する可能性がある。

以上から、*N*-ニトロソアミン類とアルデヒド類の環境中存在実態と、その日間および季節変動が明らかとなった。環境中では、日中は光分解により明瞭な減衰が確認され、昼夜問わず生分解の寄与が示唆された。しかし、ranitidine のように、塩素接触や光照射により化学構造が変換しても NDMAFP_{CINH}を残留する成分があることから、NDMAFP_{CINH}により水質を評価することの重要性が確認された。今後、現在の化学物質の審査で行われている活性汚泥による生分解試験同様、下水との接触試験や塩素接触試験や、各試験による分解産物の評価も必要だと考えられる。NMOR も光分解性を有しており、夏の日中は濃度低下が著しいが、夜間は保存的であった。このことから、NDMA 同様、夜間や悪天候時に河川を流下する水塊についても監視することの重要性が示された。

5. 本研究により得られた主な成果

（１）科学的意義

HAAs の前駆体として重要な化学構造を推定・一般化するためのデータベースを構築し、広範な化合物群からのハロ酢酸生成能を把握し、重要な化学構造を示した。また、複数の変換過程（生物処理やオゾン処理と塩素処理）の組み合わせにより、ハロ酢酸生成能が変化する物質群の具体的特徴を示した。さらに、フェノールの塩素化反応について、メタ位の炭素の塩素化が重要であることを ¹³C 標識化したフェノールを用いて示した。加えて、実際の水環境中に、ハロ酢酸の前駆物質として極めて親水性の高い有機物が普遍的に存在することを示した。

ポリフルオロアルキルリン酸類である 8:2diPAP 等が大量に下水処理施設に流入し、それが生物反応により変換され種々の PFCs(PFOA 等)が生成していることが明らかとなった。PFOA 等は汚泥中で生成され、一部

はアルコール体となり気相に移行していることが分かった。また、PFCs について、前駆体と断片イオンの衝突断面エネルギーが近似する傾向を見出し、それらによる関連性を探索手順に加えることで、Fragmentation Flagging を用いた未知ペルフルオロ化合物類の前駆体の探索手法を開発した。

N-ニトロソアミン類とアルデヒド類の環境中および下水処理場での処理実態、日間変動、季節変動について明らかにした。また、下水処理場に流入する化学物質が、下水と接触することにより有害物質に変換すること、河川流下過程で受ける光照射により変換するも、有害物質へ変換する可能性（生成能）を残留する化学物質があることを明らかにした。特に *N*-ニトロソアミン類の中で検出濃度および頻度が高かった物質については、その前駆物質を示した。さらに、光分解を受ける化学物質の河川流下点（下流地点）における濃度予測モデルを構築した。

（２）環境政策への貢献

＜行政が既に活用した成果＞

沖縄県企業局と共同で北谷浄水場の水源となっている河川水に新規に開発した前駆体の探索手法を適用したところ、26 種の PFCs が検出され、その内、7 種類が PFHxS の前駆体であることが示された。現在はさらに汚染が深刻な嘉手納基地内の井戸水を対象に、本手法を適用し、PFCs に変化する可能性のある前駆体の絞り込みを行っているところである。

＜行政が活用することが見込まれる成果＞

今回の生成能試験で明らかになった HAAs や NDMA 生成能が高い物質群については、浄水処理対応困難物質の見直しの際に有用な具体的知見として活用が期待される。

2019 年 6 月にストックホルム条約付属書 A で規制される PFOA とその類縁化合物類の環境中での存在実態を調査する際に、生物処理におけるアルコール体の気相への移行データと開発した未知の PFCs 前駆体の探索手順の活用が期待される。

本研究では、化学物質管理における生成能試験の重要性を示した。特に生成能試験のあり方について、複数の変換過程を組み合わせた場合の影響、光分解の影響等、生成能試験の導入を進める上での重要な論点について定量的な情報を提供しており活用が期待される。

NDMA 等諸外国では ng/L レベルで基準値等が設定されている物質の水環境・水処理プロセスでの挙動・存在実態は、今後の基準値設定の基礎資料としての活用が期待される。

6. 研究成果の主な発表状況

（１）主な誌上発表

＜査読付論文＞

- 1) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂, 清水尚登, 齋藤憲光: 土木学会論文集 G (環境), 72, 7, III_87-III_94 (2016)
「化粧品中のペルフルオロ化合物類生成ポテンシャルの把握と前駆体の探索」
- 2) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂: 土木学会論文集 G (環境), 73, 7, III_149-III_156 (2017)
「化粧品中のポリフルオロアルキルリン酸エステル類の好気条件下における生分解生成物の挙動」
- 3) 仲田雅俊, 鈴木裕識, 田中周平, 雪岡聖, 北尾亮太, 藤井滋穂: 土木学会論文集 G (環境), 73, 7, p.III_9-III_16 (2017)
「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類の存在実態」

- 4) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, Zeng Chenghui, 北尾亮太, 仲田雅俊, 藤井滋穂: 水環境学会誌, 41, 2, 27-34 (2018) 「化粧品由来のポリフルオロアルキルリン酸エステル類の下水処理場における挙動および流入負荷量の推定」
- 5) K. HE, E. OKUTA, A. CORDERO, S. ECHIGO, Y. ASADA and S. ITOH: Journal of Hazardous Materials, 351, 5, 98-107 (2018)
“Formation of haloacetic acids by chlorination of low molecular weight compounds listed on Pollutant Release and Transfer Registers (PRTRs)”
- 6) K. HINNEH, A. HANAFI, K. HE, K. KOSAKA, S. ECHIGO, S., Y. ASADA and S. ITOH: Journal of Hazardous Materials, 367, 620-628 (2019)
“Formation of *N*-nitrosodimethylamine by Chloramination of Anthropogenic Nitrogenous Compounds with Dimethylamine Monitored by Japanese Water Authorities”

(2) 主な口頭発表 (学会等)

- 1) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, Zeng Chenghui, 藤井滋穂: 第 19 回日本水環境学会シンポジウム (2016)
「化粧品におけるリン酸系有機フッ素化合物類と分解生成物の存在量の調査」
- 2) 中田典秀: 第 19 回日本水環境学会シンポジウム (2016)
「化学物質の規制および管理における生成能試験の導入について」
- 3) 奥田恵理香, 賀凱, Cordero Solano Jose Andres, 越後信哉, 浅田安廣, 伊藤禎彦: 第 51 回日本水環境学会年会 (2017)
「人為由来化学物質の塩素処理に伴うハロ酢酸生成特性」
- 4) 田中周平, 北尾亮太, 鈴木裕識, 雪岡聖, 仲田雅俊, 藤井滋穂, 伊佐智明, 平良知之, 福原次朗, 與古田亨: 第 51 回日本水環境学会年会 (2017)
「沖縄県比謝川のペルフルオロ化合物類汚染の現況と前駆体からの生成過程の検証」
- 5) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂, 清水尚登, 齋藤憲光: 第 51 回日本水環境学会年会 (2017)
「化粧品中のポリフルオロアルキルリン酸エステル類の好気条件下における生分解生成物」
- 6) 北尾亮太, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂, 雪岡聖, 與古田亨: 日本水環境学会年会 (2017)
「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」
- 7) 仲田雅俊, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂, 雪岡聖, 北尾亮太, 曾程輝: 日本水環境学会年会 (2017)
「琵琶湖・淀川流域における全有機フッ素および構成フッ素化合物類の濃度分布」
- 8) 中田典秀, 奥村昂平: 第 26 回環境化学討論会 (2017)
「環境水中ホルムアルデヒド分析における共存物質からの生成抑制に関する検討」
- 9) S. YUKIOKA, S. TANAKA, Y. SUZUKI and S. FUJII: Water and Environment Technology Conference 2017 (2017)
“Biodegradation Products of Polyfluoroalkyl Phosphate Esters in Cosmetics under Aerobic Condition”
- 10) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, Zeng Chenghui, 北尾亮太, 仲田雅俊, 藤井滋穂: 第 20 回日本水環境学会シンポジウム (2017)
「化粧品由来のポリフルオロアルキルリン酸エステル類の下水処理場における挙動」
- 11) B. ZHAO, N. NAKADA, K. OKUMURA, E. HASEGAWA and H. TANAKA: 第 52 回日本水環境学会年会 (2018)
“Seasonal and diurnal occurrence of *N*-nitrosamines and their formation potentials in Yodo River Basin”
- 12) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂, 林明生, 越後信哉: 第 52 回日本水環境学会年会 (2018)

「基盤構造をフィンガープリントとして活用した未知のペルおよびポリフルオロアルキル物質 (PFASs) の構造推定法の検討」

- 13) 奥村昂平, 趙博, 長谷川英資, 中田典秀, 田中宏明: 第 52 回日本水環境学会年会 (2018)
「ラニチジンの塩素処理による N-nitrosamine 生成能に及ぼす光照射の影響評価」
- 14) B. ZHAO, N. NAKADA, K. OKUMURA and H. TANAKA: 第 27 回環境化学討論会 (2018)
“Distribution and fate of N-nitrosomorpholine in Surface Water and Sewage Treatment Plant”
- 15) S. Yukioka, S. TANAKA, Y. SUZUKI, S. FUJII, S. ECHIGO, AND A. HAYASHI: Dioxin 2018 (2018)
“Suggestion on a Procedure to Identify Non-Targeted Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) based on Fragmentation Flagging by Liquid Chromatography-Ion Mobility-Quadrupole-Time of Flight Mass Spectrometry (LC/IM-QTOF)”
- 16) 越後信哉, 浅田安廣, 賀凱, 奥田恵理香, Cordero, J.A: 伊藤禎彦. 京都大学環境衛生工学研究会第 40 回シンポジウム(2018)
「消毒副生成物への変換を考慮した化学物質管理」
- 17) 趙博, 中田典秀: 第 21 回日本水環境学会シンポジウム (2018)
「淀川水系におけるニトロソアミン類とその生成能の存在実態」
- 18) 雪岡聖, 田中周平, 藤井滋穂, 鈴木裕識, 越後信哉: 日本水環境学会シンポジウム(2018)
「ペルおよびポリフルオロアルキル物質(PFASs)の Fragmentation flagging に基づいたノンターゲット分析手順の提案」
- 19) K. HINNEH, K. HE, K. KOSAKA, and S. ITOH: IWA World Water Congress & Exhibition 2018 (2018)
“Formation of N-nitrosodimethylamine by chloramination of anthropogenic tertiary amines with dimethylamine moiety”
- 20) 奥田恵理香, 越後信哉, 小坂浩司, 伊藤禎彦, 秋葉道宏: 第 53 回日本水環境学会年会 (2019)
「HPLC 分画と精密質量分析を組み合わせた溶存有機物中のハロ酢酸前駆体の特性評価」
- 21) 雪岡聖, 田中周平, 藤井滋穂, 鈴木裕識, 越後信哉: 第 53 回日本水環境学会年会(2019)
「未知のペルおよびポリフルオロアルキル物質(PFASs)の分子構造推定を目指した断片イオンのデータベースの設計」
- 22) 周嘉俊, 中田典秀, 趙博, 田中宏明: 第 53 回日本水環境学会年会 (2019)
「ラニチジン分解産物の NDMA 生成への寄与」

7. 研究者略歴

研究代表者：越後 信哉

イリノイ大学大学院環境工学専攻博士課程修了，Ph.D.，京都大学大学院工学研究科准教授，
現在，国立保健医療科学院上席主任研究官

研究分担者

1) 田中 周平

立命館大学大学院理工学研究科総合理工学専攻博士課程後期課程修了，博士(工学)，現在，
京都大学大学院地球環境学堂准教授

2) 中田典秀

東京農工大学大学院農学研究科修了，博士(農学)，土木研究所専門研究員，
日本学術振興会特別研究員，現在，京都大学大学院工学研究科講師

3) 浅田安廣

京都大学大学院工学研究科都市環境工学専攻博士後期課程退学，博士(工学)，
京都大学大学院工学研究科助教，現在，国立保健医療科学院主任研究官

Ⅱ．成果の詳細

Ⅱ－１ 浄水処理における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と体系化

[要旨]

PRTR 対象物質を中心に 200 種を超える化学物質について塩素処理におけるハロ酢酸生成能のデータベースを構築した。その上で、平成 24 年度の利根川における水質事故と同程度の流出濃度の場合、塩素処理過程でハロ酢酸の水質基準を超過しうる物質として、7 物質を抽出した。特にこれまで重要な化学構造とされてきたフェノール類に加えて、芳香族アミン類の重要性を指摘した。また、塩素処理の前に生物処理を経た場合に直接塩素処理した場合よりもハロ酢酸生成能が増加する物質がある物質として、アクリル酸および一部のフェノール類があるが、基本的には生物処理は塩素処理後のハロ酢酸生成能を低減する効果があることを示した。もう一つの複数の変換過程を考慮した例として、オゾン処理と塩素処理について検討した結果、芳香族アミン類が大きな影響を受けることを示した。反応論からの検討では、フェノールについてメタ位の炭素の重要性を、前駆体の特性解析では極めて親水性の高い画分の存在を明らかにした。PRTR 対象物質にも新規の *N*-ニトロソジメチルアミン前駆体が存在することを示した。

1. はじめに

人為由来化学物質の環境・健康リスク評価においては、水処理プロセスおよび環境中での変換生成物 (Transformation products, TPs) の重要性が指摘されてはいるものの、一部の例外を除き原体の評価に限定されてきた。しかしながら、これらの物質の水処理過程・環境中で変換された場合の環境・健康リスクについても十分考慮する必要がある。平成 24 年に利根川水系においてヘキサメチレンテトラミンが浄水塩素処理過程でホルムアルデヒドに変換された水質事故は、このような懸念が顕在化した典型例といえる。一方で、この事故への環境政策上の対応（浄水処理対応困難物質の指定等）は、ホルムアルデヒド等ごく一部の物質に限定されており、様々な有害物質への対応が求められている。

このような状況を踏まえ、多様な化学物質について複数の変換過程を想定し、対象とする有害物質の生成能のデータベースとして体系化し、あわせて変換経路を推定しその類型化を図り、これらの知見を総合して化学物質の変換過程を考慮した新たな管理体系を提示することを最終目的に、本研究では、有害物質として主にハロ酢酸 (Haloacetic Acids, HAAs) を一例として取り上げ、浄水塩素処理過程、さらには複数の変換過程を組み合わせた場合の人為由来化合物（主として PRTR 対象物質）からのハロ酢酸生成能の評価を行い、重要な化学構造の抽出を行った。また、重要な化学構造と考えられるフェノールからの反応機構の推定、および環境水中の HAA 前駆体の特性解析を行い、変換過程を考慮した化学物質管理のあり方に提言を行うことを目的とした。

HAAs は、酢酸のメチル基の水素原子がハロゲンで置換された化合物を指す。HAAs は、塩素処理副生成物のうち、検出頻度・濃度ともにトリハロメタン (Trihalomethanes, THMs) に次いで高く、水道工学上その制御が特に重要な物質群である。現在我が国では塩素のみが置換した 3 種のクロロ酢酸類に水道水質基準値が設定されている。また、塩素と臭素で置換されたブロモクロロ酢酸類および臭素で置換されたブロモ酢酸類に関しても要検討項目に挙げられている。さらに、ヨウ素化酢酸の一部は、クロロ酢酸類やブロモ酢酸類よりもほ乳類細胞に対する毒性が高く、低濃度であっても十分な注意が必要であるとの報告もある。しかしながら HAAs とならび主要な塩素処理副生成物である THMs と比べても生成機構の解明は遅れており、THMs 生成反応のハロホルム反応に対応するような代表的な反応様式すら知られておらず、人為由来化合物の塩素処理による生成メカニズムについても断片的な情報しか存在しない状況にある。

あわせて、*N*-ニトロソジメチルアミン(NDMA)についても、一部の PRTR 対象物質からの生成特性を評価した。NDMA は発がん性が疑われている物質で、いくつかの国や地域では規制が行われ、我が国でも水道の要検討項目(目標値 100 ng/L)に設定されている。この物質は、主にクロロミン処理で生成するとされるが、その毒性から十分な監視が必要な物質である。また、反応論的には特徴的な構造を持つことから、HAAs と比べて前駆物質が限定されることが考えられる。その対比の目的からも対象物質に加えた。

2. 研究開発目的

サブテーマ 1 では、特に浄水処理過程における HAAs と NDMA の生成を中心に、化学物質の変換過程を考慮した管理体系の構築に資することを目標に、以下の項目について検討を行った。

- 1) PRTR 対象物質のハロ酢酸生成能(HAA Formation Potential, HAAFP)データベースの構築と、それに基づく重要構造の抽出
- 2) 複数の変換過程を考慮した場合のハロ酢酸生成能への影響評価
- 3) フェノール等重要な化学構造からの HAAs 生成機構に関する知見の整理
- 4) 環境水中の HAAs 前駆物質の特性解析
- 5) PRTR 対象物質の NDMA 生成能(NDMA Formation Potential, NDMAFP)データベースの構築

3. 研究開発方法

(1) 人為由来化合物の塩素処理によるハロ酢酸生成能データベースの構築

HAAFP の評価物質としてまず PRTR 物質に着目した。PRTR 対象物質は全 462 物質あり、炭素数 1 の有機物と無機化合物を除くと残り 381 物質となる。本研究では、水溶解度を考慮し、炭素数 10 以下の PRTR 対象物質 155 種類を主な対象物質として選択した。

これらに加えて、PRTR 対象物質を排出量ベースで 98.5%カバーすべく加えた PRTR 対象物質 11 種、医薬品 21 種、単糖類 19 種、ジペプチドの 12 種を対象に実験を行った。反応条件としては対象有機物濃度を TOC で 3 mg/L に、塩素注入率を 30 mg/L に設定した。なお、塩素注入率の設定について、現在の浄水処理過程では溶存有機物濃度と添加される塩素の濃度はほぼ同程度でありながらも残留塩素が存在していることから、反応性に富む化学物質の量に比べ、次亜塩素酸は大過剰で加えられていると考えられたため、ここでは塩素注入率を 30 mg/L と過剰に添加することとした。

実験手順を以下に示す：0.5 M リン酸緩衝液 1 mL (pH 7.0, 最終濃度 5 mM)と超純水を用いて、反応溶液を 100 mL 作製した(最終濃度 TOC で 3 mg/L)。これに塩素濃度が 30 mg-Cl₂/L となるように次亜塩素酸ナトリウムを加え、十分に混和させた後にガラス瓶に移し、密栓状態で 24 時間暗所・室温にて反応させた。その後、40 g/L 塩化アンモニウム 1 mL をシリンジで注入して反応を止め、測定前まで 4 °C で冷蔵保存した。HAAs (クロロ酢酸 (MCAA), ジクロロ酢酸 (DCAA), トリクロロ酢酸 (TCAA), を対象とした) の分析には液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた。

(2) 生物処理が人為由来の化学物質の塩素処理によるハロ酢酸生成能におよぼす影響

対象物質として、PRTR 対象物質のうち(1)で対象とした 155 物質のうち、HAAFP が低い(合計で 3 µg/mgC 未満)ものと揮発性等の物性から実験が困難なものを除外した 51 物質を選択した。その内訳はフェノール類 16 種、芳香族アミン 12 種(主に一級アミン)、その他の芳香族化合物 8 種、脂肪族カルボニル化合物 11 種、それ以外の脂肪族化合物 5 種である。実験に用いた活性汚泥は、実際の下水処理施設のもので、活性汚泥中の溶存有機物を除去するため、0.9% NaCl 溶液を用いた遠心分離と再懸濁を 3 度繰り返した後に、対象物質

と接触させた。対象有機物濃度は TOC で 60 mg/L に設定した。溶存有機物の除去を行った活性汚泥と対象物質を十分に混和させた後にフラスコに移し、24 時間室温にて生分解反応させた後、活性汚泥懸濁液を遠心分離し、上清液を濾過した。ろ液は 20 倍に希釈し(1)と同様の塩素処理を行った。反応後、同様の条件で生分解前後（厳密には活性汚泥への吸着の影響等を除外するため 24 時間接触後と 1 時間接触後の試料の生成能を比較している）の HAAs を測定し、TOC あたりの生成能の比較を行った。

(3) オゾン処理が人為由来の化学物質の塩素処理による HAAFP におよぼす影響

上記(2)と同様の物質群について、オゾン処理の後に塩素処理を行った場合と、塩素処理のみの場合の HAAFP を測定した。オゾン処理は半回分式（セミバッチ）式の反応装置を用いて、オゾン発生装置で生成したオゾンガスを連続的に対象試料水溶液中に送入した。オゾン注入率は 10 mg/L とした。その他の反応条件及び分析条件は(1)と同様である。

(4) フェノールの塩素処理による HAAs 生成経路に関する検討

対象物質として、同位体標識化したフェノールのうち入手可能であったイプソ位の炭素が ^{13}C で標識化されたフェノール($1\text{-}^{13}\text{C}$)と、オルト位の炭素がいずれも ^{13}C で標識化されたフェノール($2,6\text{-}^{13}\text{C}_2$)を用いた。さらに、炭素鎖の分岐の HAAFP への影響評価のためクレゾール、キシレノール、メトキシフェノール類を用いて HAAs の生成能試験を行った。

(5) 環境水や下水処理水に含まれる HAAs 前駆物質の特性解析

対象は琵琶湖・淀川水系の 3 地点の淀川本川の河川水、琵琶湖南湖表流水、淀川水系内の下水処理施設の二次処理水、利根川水系下流域河川表流水の計 4 試料とした（確認ため各地点の調査は複数回行っている）。琵琶湖・淀川水系内の試料は人間活動の影響の程度が異なることを考慮して選択した。また、利根川水系下流域河川表流水の試料は、水系間の比較として追加した。試料は採水後、ガラスろ紙で吸引ろ過し、ろ液をロータリーエバポレーターで 12.5 倍に濃縮した。

溶存有機物の分画は HPLC により行った。予備実験の結果、逆相モードで分画を行った場合には初期数分の画分で TCAAFP が検出され、前駆物質の保持が困難であったため親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）により分画を試みた。疎水性と親水性の分離が明確であり、なおかつ親水性の物質が十分に保持できることを意図してグラジエント条件を設定した。フラクションコレクター部では 24 時間の連続運転により試験管に各画分を 12 mL 程度採取した。このうち 10 mL をそれぞれ測り取り、吹き付け式試験管濃縮装置でそれぞれ 0.5 mL まで濃縮した。

塩素処理時には濃縮サンプルを 100 μL 採り、0.5 mM リン酸緩衝液を加えて pH 7.0 (最終濃度 5 mM)とし、全量が 1 mL になるよう超純水を加えた。エバポレーターで濃縮したサンプルの TOC は 15-50 mgC/L 程度であった。HPLC 分画後の濃縮サンプルは全ての炭素が単一の画分に集中すると仮定した場合、3-10 mgC/L 程度となる。塩素処理時には 10 倍に希釈されるため最大濃度が 0.3~1 mgC/L となるため、これに塩素濃度が 30 mg/L の大過剰となるように次亜塩素酸ナトリウムを加え、試験管ミキサーで十分に混和させた後に 24 時間、暗所・室温にて反応させた。反応後は塩化アンモニウムを 300 mg/L となるよう添加し反応を停止した。同様に、ブランク試験として超純水に対して分画・濃縮・塩素処理を行い生成能がないことを確認した。

分析については、HAAs は LC-MS/MS、溶存有機物の精密質量分析は LC-QTOF-MS を用いて行った。また、UV 検出器を用いて各画分中の不飽和化合物の存在を確認した。

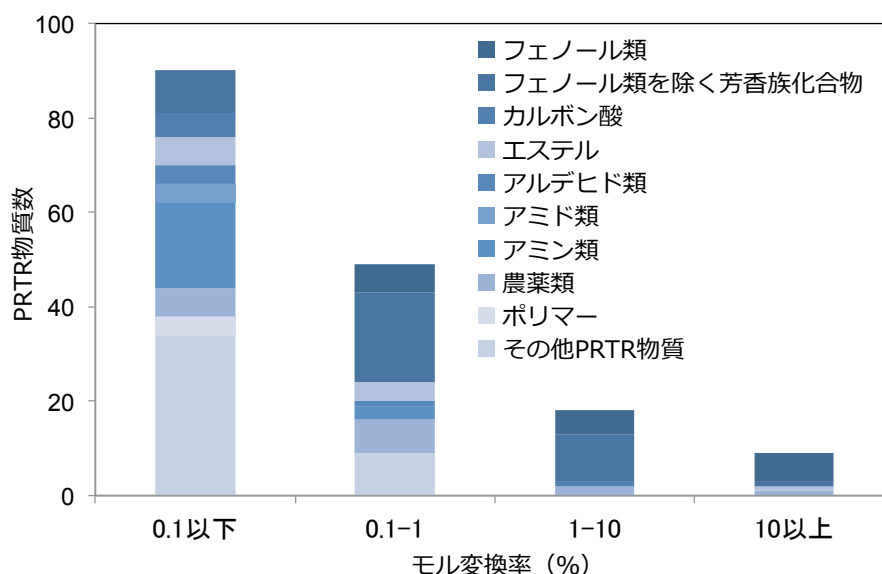
6) PRTR 対象物質等からの NDMAFP データベースの構築

NDMA 生成能データベースの対象物質として 31 種類の化合物を選定した。その内訳は、PRTR 対象物質 19、浄水処理対応困難物質 9 物質、その他文献上 NDMA 生成能が高いとされている化合物である。なお、これらの物質はヘキサメチレンテトラミンを除き、ジメチルアミン構造を持つ化学物質である。生成能試験は、初期濃度 0.1 mM、クロラミン:DOC 比=10、反応時間=24 h、pH = 7.0 (5 mM リン酸緩衝液)、温度 = 20 °C にて行った。

4. 結果及び考察

(1) 人為由来化合物の塩素処理による HAAFP データベースの構築

まず、対象とした PRTR 対象物質 155 物質の HAAFP の結果をまとめる。全体的な傾向としては、モル変換率が極端に高い物質は存在せず最大で 30%程度であった。また、10%以上のモル変換率を示す物質は全体の 1 割未満で、かつ主にフェノール性の化合物であり、限定的であった (図(1)-1)。この結果は、今回の対象物質群にはモル変換率の観点から直ちに浄水処理対応困難物質等の指定が必要となる化学物質が存在しなかったことを意味するが、HAA については基準値が比較的低いため、変換率が低くても考慮が必要となることも考えられる。この点については、このセクションの後半で詳述する。



図(1)-1 対象とした PRTR 対象物質 (155 物質) の塩素処理におけるハロ酢酸へのモル変換率の分類

DCAA 生成量と TCAA 生成量の比較をすると、DCAA と TCAA の生成比率は物質によって異なるものの、総生成能の高い物質については特に TCAA の生成量が高く、HAA の生成を議論するにあたっては TCAA の生成が重要であるといえる。また、一般的な傾向としては芳香環を含まない化合物は TCAA/DCAA 値が小さく、DCAA を主に生成することが分かった。一方で、芳香環を含む化合物は TCAA/DCAA 値が大きく、TCAA の生成が優位である。クロロ酢酸 (MCAA) については、ごく一部の物質を除いて、DCAA, TCAA のような生成は確認できなかった。よって以降では主に TCAA の生成に寄与する化学構造について考察する。MCAA, DCAA については、他の物質と比較して特異的な生成が見られた物質のみに注目した。なお HAAFP と塩素

消費量の間には明確な関係は認められなかった。構造によっては塩素と反応しても別の反応生成物変換された化合物も多数あり、構造情報と生成物の関係について精査する意義が確認できた。

以下では 6 つの物質群について HAAs の生成特性を個別に検討した後に、HAAs の前駆体として重要な化学構造の抽出を試みた。

(a) フェノール類

フェノール類は他の物質群に比べて HAAFP が高い傾向にあった（最大は 2,4,6-トリクロロフェノールで 519.7 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ 、最小はベタナフトールで 1.9 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ 、重量変換率に換算すると 0.2-31.8%の範囲、物質モル変換率に換算すると 0.2-25.4%の範囲）。また、フェノール類を含め、芳香環を持つ物質からは TCAA の生成量が多い傾向があった。特に HAAFP が高い 2,4,6-トリクロロフェノール、2-クロロフェノール、4-クロロフェノールに関してはフェノールと塩素の反応経路における中間体ともいえる構造であるため¹⁾、生成量が多いと考えられる。同様の条件で 2,6-ジクロロ-1,4-ベンゾキノンからのハロ酢酸生成量を測定した結果、MCAA の生成は確認できず、DCAA 16.8 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ 、TCAA 529.0 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ であった。2,4,6-トリクロロフェノールと比較すると、TCAA と DCAA の生成比率の類似性から 2,6-ジクロロ-1,4-ベンゾキノン(DCBQ)を経由して TCAA となる経路が主たる反応経路と考えられる。また、キシレノールやクレゾールのからの HHAAPF を測定したところ、2-クレゾールの DCAAFP は 6.8 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ 、TCAAFP は 8.2 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ であり、フェノールがそれぞれ 12.0 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ 、99.2 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ であったことと比較すると、DCAA の生成量が 10 分の 1 程度に減少している。これより、オルト位の炭素が TCAA の生成に寄与している可能性が考えられる。

4'-ヒドロキシアセトアニリドはパラ位に炭素鎖があるものの高い HAAFP を示した（4'-ヒドロキシアセトアニリドの HAAFP 154.9 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ ）。この物質も *N*-メチルアニリンが DCBQ に至る反応と類似した経路をたどって DCBQ へ変換される反応経路が存在する可能性がある²⁾。

フェノール性水酸基を 2 つ持つヒドロキノンとピロカテコールは塩素との反応性が高いものの(塩素消費量 2.32 はそれぞれ 3.94 $\text{mg Cl}_2/\text{mgC}$)、HAAFP (6.0 および 2.7 $\mu\text{g}/\text{mgC}$)は低かった。塩素化反応以外の酸化反応が卓越しているものと考えられる。同様にフェノール性水酸基を 2 つ持つレゾルシノールがある程度ハロ酢酸を生成することを踏まえると³⁾、HAAFP の予測には官能基の種類だけではなく、その位置関係も重要な情報であることが指摘できる。

(b) フェノール類を除く芳香族化合物

フェノール類の反応性を踏まえ、その他の芳香環の開裂の起こりやすさについて検討を行う。HAAFP が高かったアニリンについては、塩素との反応により DCBQ の生成が起こることが知られており²⁾、HAAs 生成反応経路はフェノールと同様であると考えられる。一般に、ベンゼン環は安定であり、電子供与性置換基の存在により活性化されない限り、反応性はあまり高くない。電子供与性置換基の強さは： $-\text{NH}_2 > -\text{NHR} > -\text{OH} > -\text{OR}$ である⁴⁾。これを踏まえて実験結果をみると、アミノ基を持つ物質群のハロ酢酸生成量は全体として高い傾向があり、概ね置換基の性質と一致している。アミノ基を二つもつ物質に関してはフェノール類のうちジヒドロキシベンゼン（例えば、ヒドロキノンとピロカテコールとレゾルシノール）同様、その反応性の高さから塩素化より速く酸化による開裂が起こるためハロ酢酸の生成に至らないと考えられる。

(c) カルボン酸とエステル

メタクリル酸から DCAA の生成 (39.5 $\mu\text{g}/\text{mgC}$) が確認されたことから、塩素処理によりメタクリル酸のメチル基あるいは二重結合部の脱離が起こっていると考えられる。ニトリロ三酢酸とエチレンジアミン四酢酸

(HAAFP は 0.5 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ と <LOQ) については塩素消費量が高い値を示しており (4.15 と 6.44 mgCl_2/mgC), 他の生成物に変換されているものと考えられる。これらの反応は HAAs の生成には至らないものの反応経路の体系化という意味では、今後生成物の同定も重要な課題となる。

エステル結合を持つ物質からのハロ酢酸生成はあまり見られなかったが、原体自体が塩素化されているクロロ酢酸エチルに関しては MCAA の生成が顕著に見られた (450 $\mu\text{g}/\text{mgC}$)。このハロ酢酸生成量は加水分解により生成した分を引いた値であり、それも合わせると 601.0 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ 生成したことになる。

(d)アミンとアミド類

アミン類は、全体的に HAAs 生成量が少なかった。アミンは一級、二級、三級いずれの場合も塩素と反応するが、それにより生成するのは主にアルデヒドである。複素環式芳香族である 3-メチルピリジン、2-ビニルピリジン、ピリジンについても生成量が少なかった。複素環もベンゼン環と同様に開裂が起こりにくいと考えられる。これら 3 つの化合物からはほとんど HAAs の生成はみられなかった。

(e)農薬類

芳香環からの TCAA 生成量が多いことは前段で示した通りであり、クロリダゾンからの HAAFP のうち TCAA (128.1 $\mu\text{g}/\text{mgC}$) はベンゼン環部分、DCAA (79.8 $\mu\text{g}/\text{mgC}$) はヘテロ環に由来するものであると考えられる。カルタップは加水分解によりネライストキシンへと変化する。ネライストキシンの化学構造に着目してみると、スルフィド基が HAAs 生成に関与していることが分かる。

トリクロロホンは脱塩素化が起こりやすく、短時間でジクロロボスが生じるとされているが、本実験のように直ちに塩素を添加した場合、トリクロロホンは脱塩素が起こることなくヒドロキシ基の酸化とホスホン酸エステル部の加水分解により TCAA へ変換されるものと考えられた。

(f)その他 PRTR 物質

1,2-ジクロロエタンは比較的高い MCAAFP (21.3 $\mu\text{g}/\text{mgC}$) を示した。酸化により一方の塩素が脱離し、さらに酸化反応が進むことによりカルボキシル基へと変化すると思われる。また、1,1-ジクロロエチレンからも MCAA の生成がみられた。

上記化合物の他に、炭素数 11 以上で使用量の多い (155 物質と合わせて全体排出量の 98.5% をカバー) PRTR 物質の HAAFP 生成能および塩素消費量について検討を行った。炭素数 10 以上フェノール類芳香環を持つ物質 (ノニルフェノール (228.6 $\mu\text{g}/\text{mgC}$) から高い HAAFP を示したが、他の排出量が高い PRTR 物質の HAAs 生成量が少なかった。

以上の結果を用いて、水質基準で定められている HAAs の基準値との比較を行った。基準値は MCAA が 0.02 mg/L , DCAA および TCAA が 0.03 mg/L である。対象有機物の濃度は平成 24 年の利根川流域でのヘキサメチレンテトラミン流出事故時の最大濃度 (2 μM) の 10 倍程度の TOC の 1.44 mgC/L とした。この仮定で基準値を超える可能性のある物質について表(1)-1 に示す。多くの物質はフェノール性化合物であるが、それ以外の物質も含まれる。このうち 7 物質 (2,4,6-トリクロロフェノール, 2-クロロフェノール, 4-クロロフェノール, フェノール, ノニルフェノール, 3,4-ジクロロアニリンとクロロ酢酸エチル) についてはヘキサメチレンテトラミンと同程度の TOC で流出した場合にも基準値を超過する可能性があり、フェノールやクロロフェノ

ール類についてはフェノール類としての基準項目に含まれるがそれ以外の物質もあるため、注意が必要である。

続いて、21 種類の医薬品の HAAFP および塩素消費量について検討を行った。多くの医薬品については HAAFP が低かったが、芳香環を持つ医薬品（テトラサイクリンとスルファメサジンとアセトアミノフェン）からは比較的高い TCAA の生成が確認できた (207.4 と 192.1 と 154.3 $\mu\text{g}/\text{mgC}$)。クラリスロマイシンとエリスロマイシンとジソピラミドとスルピリドについては塩素消費量が高い値を示しており (4.79 と 3.93 と 4.08 mgCl_2/mgC)、HAAs 以外のハロゲン化物が生成している可能性が高い。

次に、糖類とペプチドの塩素処理実験により得られた HAAFP および塩素消費量について検討を行った。糖類からのハロ酢酸の生成はあまり見られなかった。ペプチドのうち、Tyr-Phe, Glu-Tyr, Val-Tyr, Lys-His, Asn-Gln と Tyr-Gln からは HAAs の生成量が多い傾向が見られた (HAAFP : 100.8-152.2 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ の範囲)。Tyr はフェノール類アミノ酸であることが HAAs 生成の原因であると考えられる。

表(1)-1 TOC として 1.44 mgC/L (平成 24 年利根川水系水質事故の 10 倍量) 流出時に HAAs の水質基準を超過する可能性のある化合物 (表中の “-” は基準値以下を意味する)

物質名	PRTR 番号	MCAA ($>0.02 \text{ mg/L}$)	DCAA ($>0.03 \text{ mg/L}$)	TCAA ($>0.03 \text{ mg/L}$)
2,4,6-トリクロロフェノール	287	-	-	729.6
2-クロロフェノール	120	-	-	626.8
4-クロロフェノール	121	-	-	632.6
4'-ヒドロキシアセトアニリド	335	-	33.0	189.2
4-tert-ブチルフェノール	368	-	-	205.9
フェノール	349	-	-	578.4
4-クロロ-3-メチルフェノール	129	-	-	133.1
3-アミノフェノール	24	-	44.5	102.0
ノニルフェノール		-	-	321.1
2,4-ジニトロフェノール	201	-	-	53.3
3,4-ジクロロアニリン	156	-	125.3	461.7
4-クロロアニリン	89	-	94.3	205.5
N,N-ジメチルアニリン	216	-	58.6	145.6
2,4-トルエンジアミン	301	-	168.5	-
アニリン	18	-	-	75.0
フェニルヒドラジン	345	-	-	56.2
1-メチル-1-フェニルエチル =ヒドロペルオキシド	440	-	-	41.5
メタクリル酸	415	-	56.9	-
クロロ酢酸エチル	99	865.4	-	-
クロリダゾン	21	-	114.9	184.5
トリクロロホン	225	-	-	146.0
カルタップ塩酸塩	152	36.4	66.1	-
1,2-ジクロロエタン	157	30.7	-	-

(2) 生物処理が人為由来の化学物質の塩素処理による HAAFP におよぼす影響

対象とした 51 種類の化合物の活性汚泥との接触前後の HAAFP の変化 (注：厳密には 1 時間以内の短時間接触と 24 時間接触感の比較) をまとめた結果を図(1)-2 に示す。生分解等による DOC の減少は、生成能の計算式で考慮されており、生成能の増減には寄与せず、増減が生じた場合には、代謝産物が生成しその生成能の差異が変化量に影響する。

一般的傾向として、TCAAFP の変化量の範囲は DCAAFP の変化量の範囲より大きかった。アクリル酸を除き、DCAAFP の変化量は、-54~+52 $\mu\text{g}/\text{mg}$ の範囲でほとんどが $\pm 20 \mu\text{g}/\text{mg}$ の範囲に収まった。一方 TCAAFP

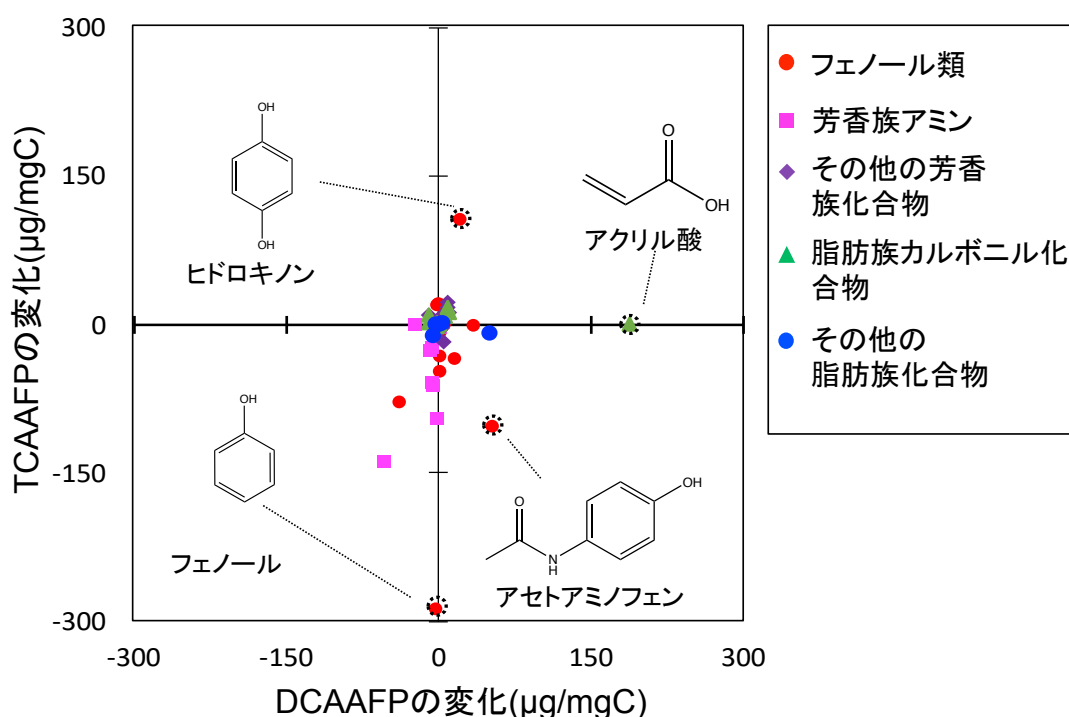
については、特に減少側の変化量が大きいものがいくつかあったことが特徴的である (-100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 前後)。ただし、フェノール類等元々の（活性汚泥との接触なしの）TCAAFP の高い化合物については、活性汚泥との接触後の TCAAFP は減少または変化がない傾向にあった。なお、DOC の測定の結果、1 時間程度の活性汚泥との接触では変化がなく今回対象とした物質が吸着される可能性は低いものと考えられた。

以下では、対象物質をフェノール類、芳香族アミン、その他の芳香族化合物、脂肪族カルボニル化合物、その他の脂肪族化合物に分類してそれぞれの傾向について述べる。

(a) フェノール類

水酸基のみを置換基としたフェノール類としては、フェノール、カテコール、およびヒドロキノンを対象とした。これらのうち、フェノールとカテコールでは活性汚泥との接触後に TCAAFP はほぼ消失した。この結果は、フェノールがカテコールの生成を経由した生分解に起因すると考えられる⁵⁾。

一方で、ヒドロキノンの TCAAFP は、活性汚泥との接触後に増加した。これは、その対称構造上求電子置換反応よりも酸化反応が起こりやすいため、ヒドロキノンを経由して直接塩素処理した場合の TCAAFP が、低い一方で、生物分解によって、別の水酸基が芳香環上に置換されて⁶⁾、塩素化反応が進みやすくなるためと考えられた。



図(1)-2 生物処理（活性汚泥との接触）がDCAAおよびTCAAの生成能におよぼす影響（変化量で比較している。すなわち、24 h 接触後に塩素処理した場合に、塩素処理単独（厳密には吸着の影響を考慮するために1h 程度の接触あり）よりも増えた場合に正の変化量となる）

アセトアミノフェン(*N*-(4-ヒドロキシルフェニル)アセトアミド)の TCAAFP は活性汚泥と接触により 138 から 35 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ に減少した。この物質の主な代謝産物として 4-アミノフェノールが知られているが⁷⁾、この物質の TCAAFP は低く(6 $\mu\text{g}/\text{mgC}$)、それが TCAAFP 低下の一因と考えられる。また、塩素が置換しているフェノール類(2-クロロフェノール、4-クロロフェノール、および 2,4,6-トリクロロフェノール)の TCAAFP と

DCAAFP には変化が見られなかった。これは、これらの塩素化体は、生分解性が低く、生分解の効果がみられないためと考えられた。

以上フェノールについてまとめると、活性汚泥との接触は、ヒドロキノンのような例外はあるものの、生物分解するものについては TCAAFP を減少させる傾向があることがわかった。

(b) 芳香族アミン

芳香族アミンの TCAAFP および DCAAFP は多くの場合、活性汚泥との接触(24 h)で減少した。このうち最も変化が大きかったのが 3,4-ジクロロアニリンで DCAAFP と TCAAFP の変化量はそれぞれ-54 および-139 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ であった。ついで、2-アニシジンの TCAAFP の変化-94.0 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ が特に顕著な変化であった。これらの減少を説明するメカニズムの一つがカテコールの生成⁸⁻¹⁰⁾を経た生分解である。このため、芳香族アミンについては総じて、生分解により HAAFP が低下するものと考えられた。

(c) その他の芳香族化合物

上記以外の芳香族化合物については、活性汚泥との接触前後で HAAFP に大きな変化はみられなかった。これは、これらの化合物の生分解性がフェノール類やアミン類よりも相対的に低いためと考えられた。これは、DOC の変化が少ないことから支持される。

(d) カルボニル基をもつ脂肪族化合物

この分類では、アクリル酸を除き、HAAFP の変化量は小さかった。また、多くの物質で DOC の減少がみられ (>56.3%) 少なからず無機化が進行するものと考えられた。アクリル酸は特異的な例外で、DCAAFP の活性汚泥の接触前後の変化量は+187.5 $\mu\text{g}/\text{mgC}$ で対象とした全物質のうちで最高値であった。一般に β -ジカルボニル構造を持つ脂肪族化合物は DCAA の重要な前駆体であるとされ¹¹⁾、活性汚泥中の微生物によってそのような化学構造が生成し、生成能の増大につながったと考えられる。したがって、アクリル酸および類似の構造については、生物分解後に DCAAFP が増大する可能性があり、注意を要する物質群であるといえる。ただし、メタクリル酸のように炭素鎖の分岐が含まれる場合には、このような DCAAFP の増大は認められず、DCAAFP 増大の必要条件としては、炭素鎖の分岐がないアクリル酸様構造の存在と整理することができる。

(e) カルボニル基をもたないカルボニル化合物

この分類の化合物は HAAFP の変化は小さく、アクリル酸のように特異的に生物分解で前駆体に変換されることはなかった。以上(d), (e)の結果を総合すると、脂肪族化合物については、アクリル酸を例外として、HAAFP の変化は認められなかった。

以上のことをまとめると、人為由来化合物の塩素処理による HAAFP に対する生物分解の影響として、以下の3点に集約できる。(1) 元々の HAAFP が高い物質の HAAFP は活性汚泥との接触で減少傾向または不変であり、元々の HAAFP よりも高くなることはない。(2) 全体的な傾向として大幅な増加が認められた物質は限られている。(3) その中でもヒドロキノンとアクリル酸様の構造をもつ化合物には注意を要する。

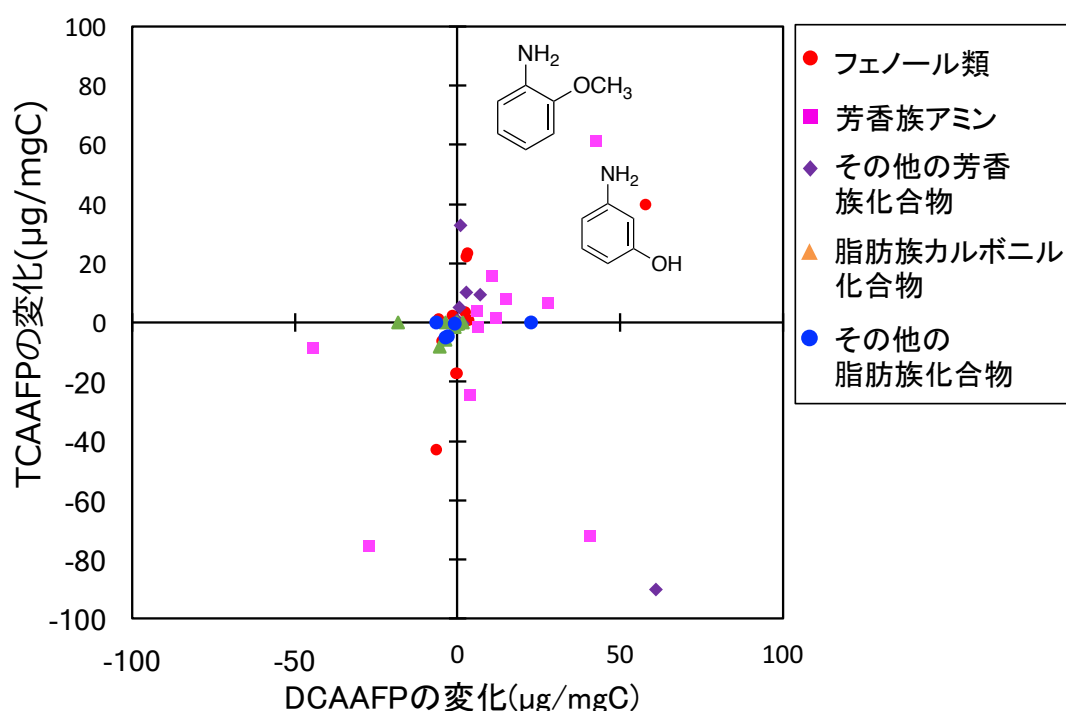
(3) オゾン処理が人為由来の化学物質の塩素処理による HAAFP におよぼす影響

図(1)-3 に(2)と同様の物質群について、オゾン処理が塩素処理後のハロ酢酸生成能に与える影響を示す。芳香族アミンについて、変化量が大きかった (アミノフェノールを含む)。アミン類はオゾンと反応性が高く、

何らかの化学的変換を受けやすいことから、この傾向は妥当なものと考えられた。ただし、個別の物質の変化を比較すると、FPが増加する場合と減少する場合があり、塩素単独処理でFPの高いものは減少傾向、逆に低いものは増加傾向にあったが、それ以上の反応論に基づいた詳細な法則性を見出すことはできなかった。

生物分解の場合と比較すると、芳香族アミンで変化量が多い点は共通していたが、増減や構成されるHAAの種類に共通性は見出せなかった。また、共通の傾向として、塩素単独処理でFPが高いものがさらに高くなる場合はなかった。

以上(2),(3)をまとめると、複数の変換過程を組み合わせた場合に、塩素処理単独よりもHAAFPが増大することがあり、それぞれの組み合わせについて注意を要する化学物質（生物処理の場合は、ヒドロキノンおよびアクリル酸様物質、オゾン処理の場合は一部の芳香族アミン）の特徴を抽出することができた。



図(1)-3 オゾン処理がDCAAおよびTCAAの生成能におよぼす影響（変化量で比較している。すなわち、オゾン処理後に塩素処理した場合に、塩素処理単独よりも増えた場合に正の変化量となる）

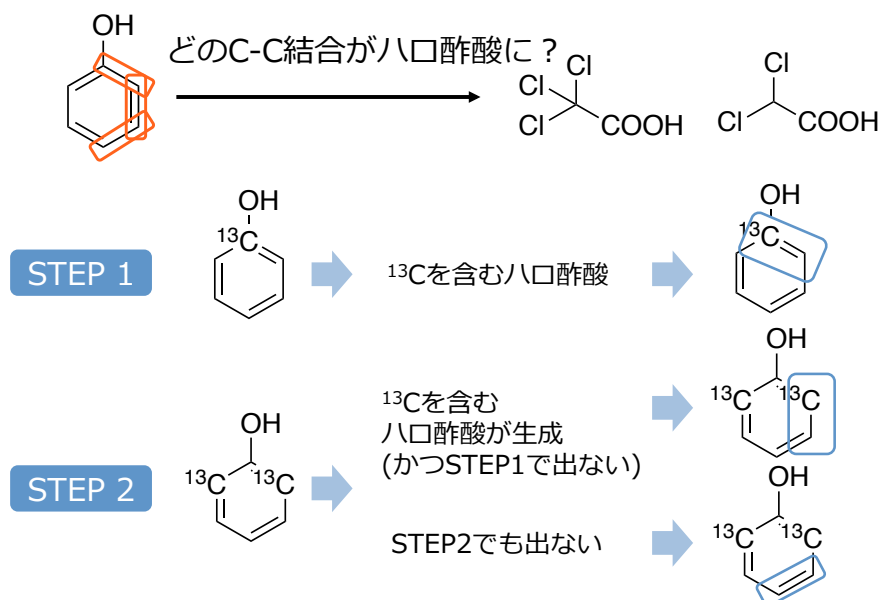
(4) フェノールの塩素処理によるハロ酢酸生成経路に関する検討

同位体標識化フェノールを用いた実験では、図(1)-4に示すプロセスでHAA生成に寄与する炭素位置の特定を行った。すなわち、フェノール($1\text{-}^{13}\text{C}$)から ^{13}C を含むTCAAが得られた場合には、イプソ位とオルト位の炭素がTCAA生成に寄与することが確認される。また、 ^{13}C を含むTCAAが得られなかった場合には、フェノール($2,6\text{-}^{13}\text{C}_2$)から ^{13}C を含むTCAAの生成が認められた場合にはオルト位とメタ位の炭素が、 ^{12}C のみで構成されたTCAAが生成した場合にはメタ位とパラ位の炭素を炭素骨格としてTCAAが生成することがわかる。

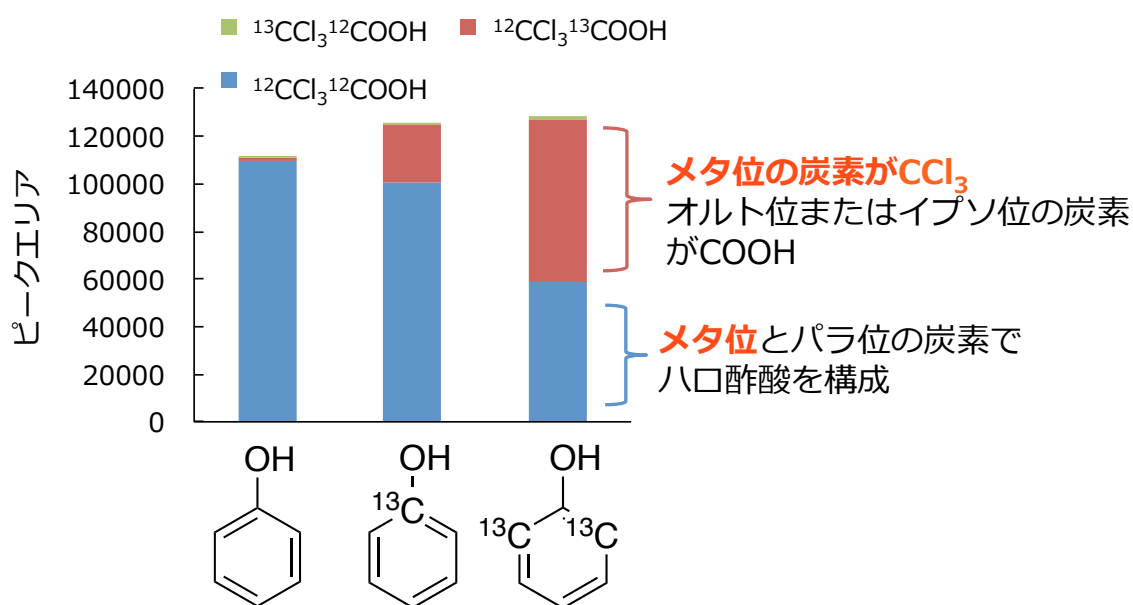
図(1)-5に示すイプソ位の炭素が ^{13}C で標識化されたフェノール($1\text{-}^{13}\text{C}$)と、オルト位の炭素がいずれも ^{13}C で標識化されたフェノール($2,6\text{-}^{13}\text{C}_2$)からのTCAAの生成能試験の結果を示す。 $1\text{-}^{13}\text{C}$ のフェノールからの ^{13}C が含まれるHAAの生成量は低く、組み合わせとしてはオルト位とメタ位の炭素間あるいはメタ位とパラ位の炭素が主要な炭素骨格となると考えられた。さらに、フェノール($2,6\text{-}^{13}\text{C}_2$)から $^{13}\text{CCl}_3^{12}\text{COOH}$ の生成が確認されなかったことから、メタ位とオルト位の炭素でTCAAが構成される場合には、メタ位の炭素が CCl_3 基側、

オルトの炭素がカルボキシル基側へと変換されることが明らかになった。また、2-クレゾールおよび 3-クレゾールの TCAAFP がフェノールのそれに比べて著しく低下した一方で、4-クレゾールは一定の TCAAFP を示したことから、フェノールからの TCAA の生成については開環と炭素鎖の縮小のための脱離反応は必須であり、炭素鎖の分岐がオルト位あるいはメタ位にある場合にはそれらの反応が阻害される可能性が高いと考えられた。

以上の結果は、メタ位の炭素が HAA の炭素骨格として重要であることを強く示唆している。メタ位における炭素鎖分岐の有無が HAAFP を判断する上でも重要な指標となる可能性を示すことができた。



図(1)-4 ^{13}C 標識化フェノールを利用したフェノールの塩素化によるハロ酢酸に関する炭素位置の推定法



図(1)-5 ^{13}C 標識化フェノールの塩素化により生成する TCAA の内訳

(5) HPLC 分画と精密質量分析を組み合わせた溶存有機物中の HAA 前駆体の特性評価

4 種類の対象試料を HILIC により分画したのち、それぞれの画分について塩素処理を行い、TCAAFP を測定した結果を図(1)-6 に示す。いずれの試料についても、23～25 分付近の画分で TCAAFP が最大となっ

た。この実験で用いた HILIC による分画では、疎水性の化合物が先に溶出され、親水性の高い化合物ほど保持時間が長くなる。23～25 分付近の画分ではリン酸イオン等の無機イオンも溶出されていることが確認されており、極めて親水性が高い領域に TCAAFP のピークが存在することになる。これまで、HAA の前駆体はどちらかといえばフミン酸やフルボ酸等の疎水性化合物が主体であると考えられていたが、それ以外にも無視できない超親水性溶存有機物が存在することを意味する。なお、超純水に対して同様の分画、濃縮、塩素処理の操作を行ったブランク試料では、HAA は定量下限値を下回っており、検出された TCAAFP は、分析装置や濃縮システムに由来するものではなく、原水自体に由来するものであることを確認している。

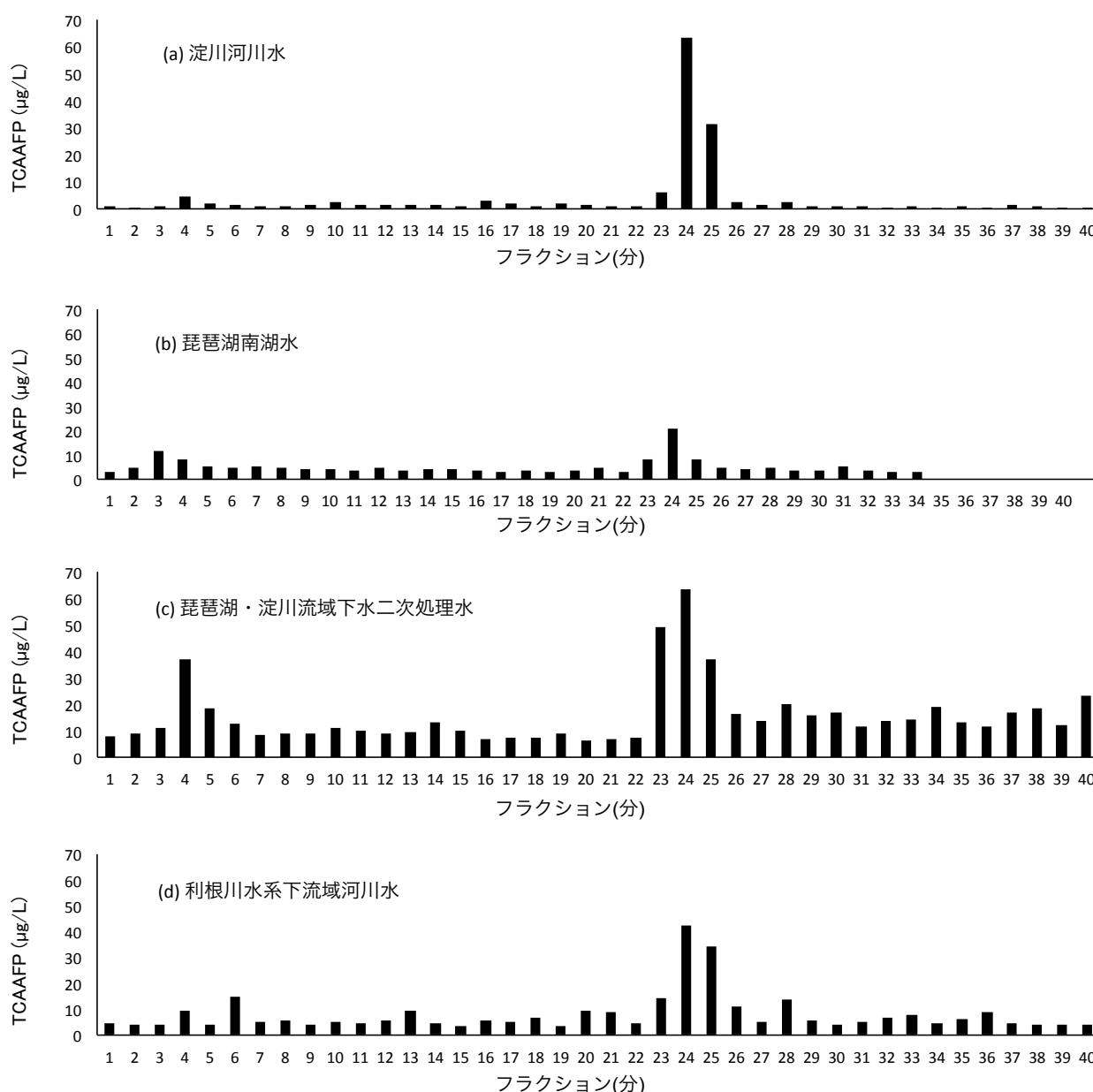


図 (1)-6 環境水および下水処理水の HILIC による各画分の塩素処理による TCAAFP

琵琶湖南湖表流水，淀川河川水，下水二次処理水はいずれも同一水系で得られたサンプルであるが，自然由来の DOM がそのほとんどを占めると考えられる琵琶湖南湖表流水と，人間活動の影響を受けている下水二次処理水でも同様に，量的な差はあるものの，23～25 分の画分で特に高い TCAAFP が認められ，これらの画分に前駆体が集中していると考えられた。また，水源が異なる利根川水系下流域の河川水でも同様の傾

向が確認された。これらのことから、水源や採水地点に関わらず、親水性の高い化合物が TCAA 前駆体として普遍的に存在することが示唆された。

各試料（濃縮後）の HILIC による UV クロマトグラムをみると（一例として淀川河川水の例を図(1)-7 に示す）、全ての試料について 3～5 分の画分と 23～25 分の画分の 2 箇所ピークが認められた。24 分前後のピークは TCAAFP が高かった画分と概ね一致しており、既存研究で述べられているような紫外線の吸収と TCAAFP の関係性がこの親水性画分にも当てはまることがわかった。一般に芳香環や不飽和結合は 254 nm 付近に吸収を持つといわれており、TCAAFP が高かった 23～25 分の画分にもこれらの構造を持つ物質が存在し、トリクロロ酢酸のように多段階の塩素化反応が必要となる副生成物の場合、芳香環が構造中に存在している可能性が高い。なお、各試料の UV クロマトグラムのピーク強度は各サンプルの TOC の高低と一致した。また、24 分の画分の Q-TOF-MS による精密質量分析の結果、いくつかの窒素化合物が検出されたが、塩素処理前後の差異解析を行うと大きな変化は見られないため、反応部位はアミン様構造ではない可能性が高い。また、ネガティブモードで検出されたイオンが多かったことを踏まえると、カルボキシル基によって親水化したフェノール性化合物がハロ酢酸前駆体として重要な化学構造であることが示唆された。

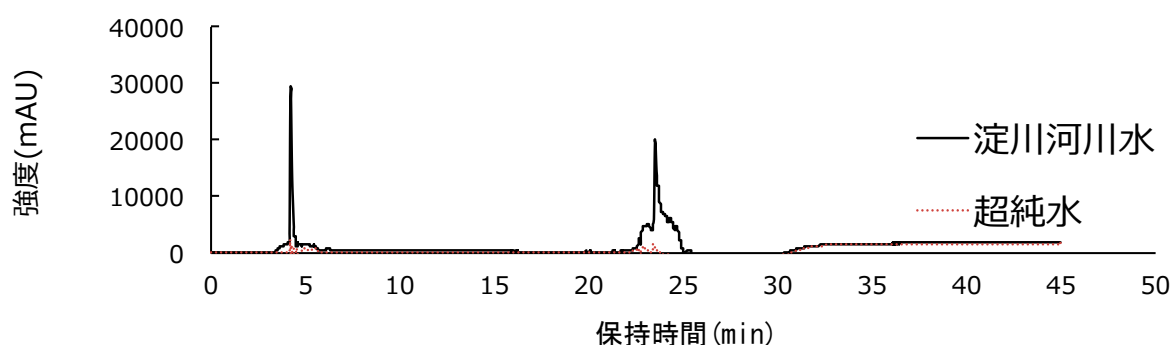


図 (1)-7 淀川河川水の HILIC によるクロマトグラム（検出器, UV; 波長, 254 nm）

(6) PRTR 化合物のクロラミン処理における NDMAFP データベースの構築

図(1)-8 に NDMA 生成能試験の結果を示す（以下化合物の略称については図を参照のこと）。ラニチジン等 NDMA 生成能が高い既知の物質に比べると、PRTR 対象物質の生成能は低い傾向にあり、数 10%といった高いモル変換率を示すものはなかった。また、モル変換率 0.1%以上の物質は 31 物質中 14 物質であった。以下、ジメチルアミン構造にカルボニル基が隣接するアミド、ジメチルアミン構造を有する脂肪族アミン、ジメチルアミン構造をもつ複素環式アミン、ジメチルアミン構造を有する芳香族アミンに分けて考察する。

ジメチルアミン構造にカルボニル基が隣接するアミドの NDMA 生成能は低い傾向にあった(ほとんどが検出下限未満)。これは、カルボニル基により窒素原子上の電子密度が低下し、クロラミンとの反応性が低下したためと考えられる。それにもかかわらず、DMCCI は例外でモル変換率が比較的高かった(1.1%)。これは、DMCCI が直接反応するのではなく、加水分解を経てジメチルアミンが生成するためと考えられた。ジメチルアミン構造を有する脂肪族アミンでは、TMED(3.1%)と DMiPA(9.3%)で変換率が高かった。TMED はジメチルアミン構造を 2 つ有すること、DMiPA については脱離基が安定していることが理由と考えられた。一方でその他の物質は、脱離基の安定性、電子吸引性の官能基の存在のため比較的変換率は低いと考えられた。ジメチルアミン構造をもつ複素環式アミンでは、RNTD, DMAMT, DFUR のようにジメチルアミン構造の β 位にアリル基がある構造で生成能が高いことを確認した。ジメチルアミン構造をもつ芳香族化合物のうち、アニ

リンとアニリンの誘導体の NDMA 生成能は低かった。一方、DMBzA の生成能は高く、ジメチルアミン構造の β 位にアルキル基がある場合に生成能が高くなることを指摘できた。

以上の実験結果を総合すると、NDMA の生成能が高い化学構造はジメチルアミン構造を持ち、かつその β 位にアリル基やアルキル基が存在し、窒素原子の電子密度が減少する官能基が隣接していない場合に限定されることがわかった。逆にジメチルアミン構造を持たない化学構造や存在しても電子吸引性の官能基が隣接している場合は前駆体の候補からは除外できると考えて良いことがわかった。すなわち、NDMA の前駆体である条件を満たす化合物はかなり限定されることがわかった。

ハロ酢酸の場合と同様に、平成 24 年利根川水系でのヘキサメチレンテトラミンの流出事故と同レベルの水質事故(TOC として 0.144 mg/L)を想定した場合、31 物質中 15 物質(DMAMT, DFUR, DMBzA, RNTD, DMiPA, TMED, DMCCI, DMA, TMA, DMAPOH, DMS, DMAEMA, DMF, AADMAE, Cartap)が目標値(100 ng/L)を生成能として超過すると試算できた。これらのうち、6 物質は PRTR 対象物質、3 物質は浄水処理対応困難物質であった。

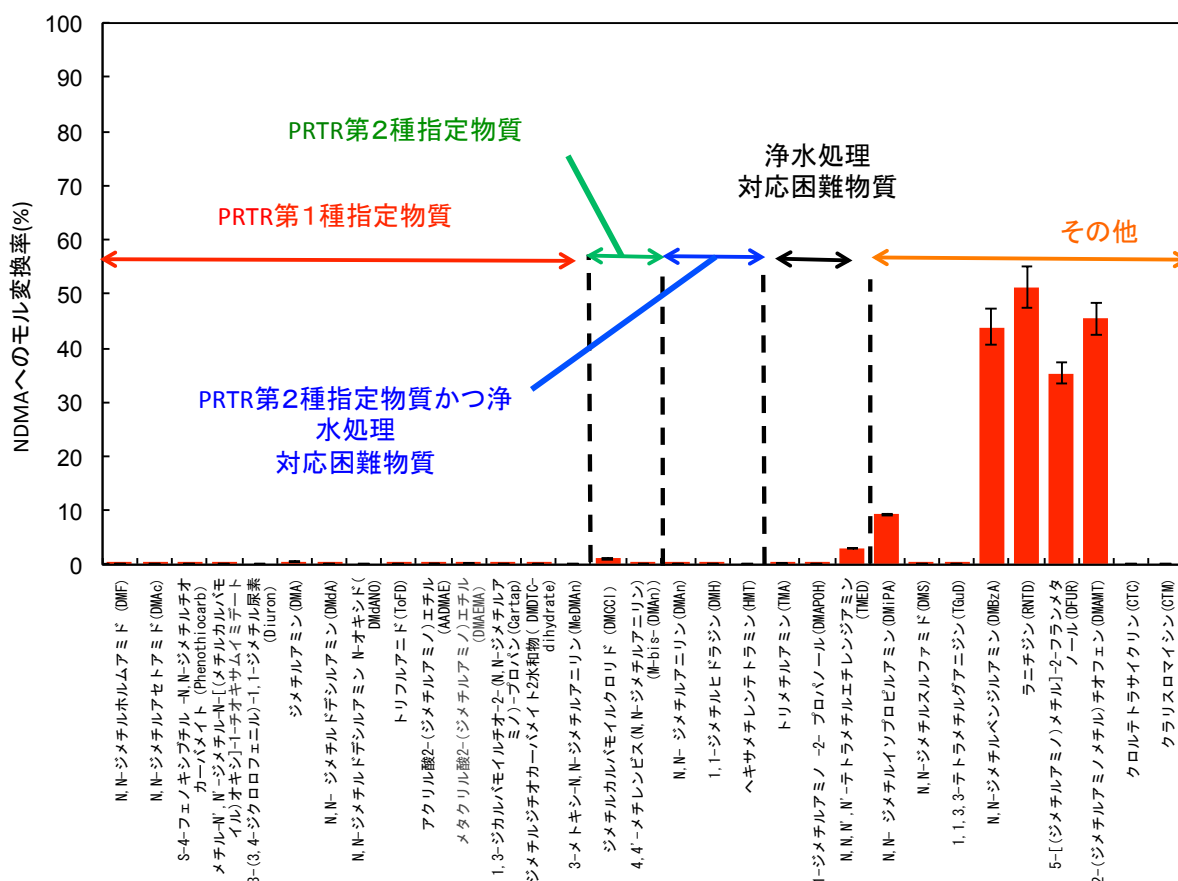


図 (1)-8 PRTR 指定物質等の NDMA へのモル変換率(クロラミン処理)

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

HAA の前駆体として重要な化学構造を推定・一般化するためのデータベースを構築し、広範な化合物群からの HAAFP を把握し、重要な化学構造を示した。また、複数の変換過程(生物処理やオゾン処理と塩素処理)の組み合わせにより、ハロ酢酸生成能が変化する物質群の具体的特徴を示した。さらに、フェノールの塩素化反応について、メタ位の炭素の塩素化が重要であることを¹³で標識化したフェノールを用いて示した。

加えて、実際の水環境中に、HAAsの前駆体として極めて親水性の高い有機物が普遍的に存在し、精密質量分析や親水性相互作用クロマトグラフィーの結果から、親水性官能基に修飾されたフェノール性化合物の可能性が高いことを示した。

（２）環境政策への貢献

平成24年度の利根川水系での水質事故と同程度の濃度で流出した場合、塩素処理過程でHAAsの水質基準を超過する物質として、2,4,6-トリクロロフェノール、2-および4-クロロフェノール、フェノール、ノニルフェノール、3,4-ジクロロアニリンとクロロ酢酸エチルを抽出した。一部はフェノール類として基準対象であるがそれ以外の物質もあり、浄水処理対応困難物質の見直しに関して有用な情報を提供することができた。また、生物処理と塩素処理、2つの変換過程を考慮した場合には、一部の例外を除きHAAFPは低下・不変であることを示した。このことは、適切な下水処理が消毒副生成物の観点からも極めて重要で、上下水道を合わせた、すなわち流域全体での化学物質の管理・モニタリングの重要性、またその中に生成能試験を積極的に取り入れる意義を示した。さらに、クロラミン処理によるNDMAFPについても評価を行い、いくつかの特徴的構造を有するPRTR対象物質が流出事故時に生成能としては目標値を超えうることを示した。これらの情報についても、浄水処理対応困難物質の見直し等化学物質の規制・管理において活用が期待できる。

<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>

今回の生成能試験で明らかになった消毒副生成物生成能が高い物質群については、浄水処理対応困難物質の見直しの際に有用な具体的知見として活用が期待される。また、複数の変換過程を組み合わせた場合の影響については、人為由来の化学物質管理を考える上で、実際の流域の水利用のあり方・水処理プロセスを考慮することの重要性を示したといえ、今後生成能試験が積極的に化学物質管理に導入されていくことが望ましいが、その際の生成能試験のあり方について、変換過程の組み合わせた場合の影響の程度等、重要な論点について定量的な情報を提供しており活用が期待される。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

（１）誌上発表

<論文（査読あり）>

- 1) K. HE, E. OKUTA, A. CORDERO, S. ECHIGO, Y. ASADA and S. ITOH: Journal of Hazardous Materials, 351, 5, 98-107 (2018)
“Formation of haloacetic acids by chlorination of low molecular weight compounds listed on Pollutant Release and Transfer Registers (PRTRs)”
- 2) K. HE, T. YONETANI, Y. ASADA, S. ECHIGO and ITOH, S.: Microchemical Journal, 145, 91-1198 (2019)
“Simultaneous determination of carbamazepine-*N*-glucuronide and carbamazepine phase I metabolites in the wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry”
- 3) Q. YIN, K. HE, S. ECHIGO, G. WU, X. ZHAN and H. HU: Frontiers in Microbiology, 9, 237 (2018)

“Ferroferric Oxide Significantly Affected Production of Soluble Microbial Products and Extracellular Polymeric Substances in Anaerobic Methanogenesis Reactors”

- 4) M. GU, Q. YIN, Z. WANG, K. HE, and G. WU: Chemosphere, 212, 881-889 (2018)
“Color and nitrogen removal from synthetic dye wastewater in an integrated mesophilic hydrolysis/acidification and multiple anoxic/aerobic process”
- 5) K. HE, S. ECHIGO, Y. ASADA, Y. and S. ITOH: Analytical Sciences, 34, 3, 349-354 (2018) 「Determination of caffeine and its transformation products in wastewater treatment plants using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry」
- 6) K. HINNEH, A. HANAFI, K. HE, K. KOSAKA, S. ECHIGO, S., Y. ASADA, Y. and S. ITOH: Journal of Hazardous Materials, 367, 620-628 (2019)
“Formation of *N*-nitrosodimethylamine by Chloramination of Anthropogenic Nitrogenous Compounds with Dimethylamine Monitored by Japanese Water Authorities”

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) 奥田恵理香, 賀凱, Cordero Solano Jose Andres, 越後信哉, 浅田安廣, 伊藤禎彦: 第 51 回日本水環境学会年会 (2017)
「人為由来化学物質の塩素処理に伴うハロ酢酸生成特性」
- 2) E. Okuta, K. He, A.J. Cordero, A.J., S. Echigo, Y. Asada and S. Itoh: IWA 10th Micropol & Ecohazard Conference
“Screening of important anthropogenic precursors of haloacetic acids in water chlorination”
- 3) 賀凱, 米谷貴志, 越後信哉, 浅田安廣, 伊藤禎彦: 第 52 回日本水環境学会年会(2018)
「土壌浸透処理における処理水中カルバマゼピン及び代謝物の変換」
- 4) 越後信哉, 浅田安廣, 賀凱, 奥田恵理香, Cordero, J.A, 伊藤禎彦: 京都大学環境衛生工学研究会第 40 回シンポジウム(2018)
「消毒副生成物への変換を考慮した化学物質管理」
- 5) K. HINNEH, K. HE, K. KOSAKA, and S. ITOH: IWA World Water Congress & Exhibition 2018 (2018) “Formation of *N*-nitrosodimethylamine by chloramination of anthropogenic tertiary amines with dimethylamine moiety”
- 6) A. CORDERO, K. HE, E. OKUTA, S. ECHIGO, Y. ASADA AND S. ITOH: IWA World Water Congress & Exhibition 2018 (2018)
“Effect of biodegradation on haloacetic acid formation potential of anthropogenic compounds during chlorination”
- 7) 奥田恵理香, 越後信哉, 小坂浩司, 伊藤禎彦, 秋葉道宏: 第 53 回日本水環境学会年会 (2019)
「HPLC 分画と精密質量分析を組み合わせた溶存有機物中のハロ酢酸前駆体の特性評価」
- 8) 越後信哉: 第 77 回日本公衆衛生学会総会
「未知の汚染物資を考慮した水の安全確保」

(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) 国立保健医療科学院公開シンポジウム「水環境汚染・管理の動向 ～微量化学物質やマイクロプラスチック～」を主催およびパネルディスカッションコーディネーターを担当（主催：国立保健医療科学院，2018年11月16日：国立保健医療科学院，参加者50名）
- 2) 相模川・酒匂川水質協議会 講演会（主催：相模川・酒匂川水質協議会，2018年12月17日：横浜情報文化センター，参加者150名）にて講演「水道水質に関するリスク評価・管理をめぐって」
- 3) 第20回日本水環境学会シンポジウム（主催：日本水環境学会，2017年9月29日：和歌山大学，参加者約50名）にて特別講演「変換過程を考慮した化学物質管理を目指して」

(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) R.A. Larson and E.J. Weber: CRC press, New York (1994)
“Reaction Mechanisms in Environmental Organic Chemistry”
- 2) K. KOSAKA, T. NAKAI, Y. HISHIDA, M. ASAMI, K. OHKUBO, AND M. AKIBA: Water Res. 110, 48-55 (2017) “Formation of 2, 6-dichloro-1, 4-benzoquinone from aromatic compounds after chlorination.”
- 3) S.D. BOYCE AND J.F.HORNIG: Environ. Sci. Technol. 1, 4, 202-211(1983)
“Reaction pathways of trihalomethane formation from the halogenation of dihydroxyaromatic model compounds for humic acid. Environmental”
- 4) P.Y. BRUICE: Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ (1998)
“Organic Chemistry” (2nd ed.)
- 5) A. KRASTANOV, Z. ALEXIEVA, and H. YEMENDZHIEV: Eng. Life Sci., 13, 1, 76-87 (2013)
“Microbial degradation of phenol and phenolic derivatives”
- 6) S.Y. CHO, O.S. KWEAN, J.W. YANG, W. CHO, S. KWAK, S. PARK, Y. LIM and H.S. KIM: Bioresour. Technol. 245, 1800–1807 (2017)
“Identification of the upstream 4-chlorophenol biodegradation pathway using a recombinant monooxygenase from *Arthrobacter chlorophenolicus* A6”
- 7) S. WU, L. ZHANG and J. CHEN: Appl. Microbiol. Biotechnol, 6, 4, 875-884 (2012)
“Paracetamol in the environment and its degradation by microorganisms”
- 8) D. CUI, D., SHEN, C. WU, C., LI, D. LENG and M., ZHAO: Int. Biodeterior. Biodegradation 125, 86–96 (2017)
“Biodegradation of aniline by a novel bacterial mixed culture AC”
- 9) S. MURAKAMI, T. HAYASHI, T., MAEDA, S. TAKENAKA, K. and AOKI: Biosci. Biotechnol. Biochem. 67, 2351–2358. (2003)
“Cloning and functional analysis of aniline dioxygenase gene cluster, from *Frateruia* species ANA-18, that metabolizes aniline via an ortho-cleavage pathway of catechol”

- 10) J. ZEYER, A. WASSERFALLEN AND K.N. TIMMIS: *Appl. Environ. Microbiol.*, 50, 447–453 (1985)
“Microbial mineralization of ring-substituted anilines through an ortho-cleavage pathway”
- 11) E.R.V. DICKENSON, R.S. SUMMERS, J.P. CROUÉ, and H. GALLARD: *Environ. Sci. Technol.* 42, 3226–3233 (2008)
“Haloacetic acid and trihalomethane formation from the chlorination and bromination of aliphatic β -Dicarbonyl acid model compounds”

Ⅱ-2 下水処理における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と体系化

[要旨]

一部の化粧品中に有機フッ素化合物類（PFCs）の前駆体が存在しており、特にポリフルオロアルキルリン酸類（PAPs）が高濃度（ファンデーションから最大 76,800,000 ng/g-wet）で含有されていること等が明らかとなった。これらは洗い流しにより下水処理場に流れ込み、前駆体のひとつである 8:2diPAP が返送汚泥を通じて、下水処理場で循環していることが明らかとなった。さらに、活性汚泥を用いた回分式試験により、8:2diPAP から種々の PFCs が生成していることが明らかとなった。また、PFOA 等は汚泥中で生成され、いくつかはアルコール体となり気相に移行していることが分かった（8:2diPAP のうちモル生成率で 29% が 7:2sFTOH（フッ素テロマーアルコール）として気相へ移行）。化粧品の他にも消火剤中に PFCs の前駆体が存在していることが明らかとなり、前駆体のひとつである *N*-EtFOSE（*n*-ethylperfluorooctane sulfonate amide ethanol）から PFOS, PFOA, PFHxA などが生成し、中間生成体もモル生成率で 14% 生成することが分かった。

不活化ガスで前駆体を分解し断片イオンを標識として活用する手順を検討し、44 種類の標準物質から 1,247 の断片イオンの情報をデータベース化した。さらに PFCs については、前駆体と断片イオンの衝突断面エネルギーが近似する傾向を見出し、それらによる関連性を探索手順に加えることで、Fragmentation Flagging を用いた未知ペルフルオロ化合物類の前駆体の探索手法を開発した。本手法を沖縄県嘉手納基地近辺の大工廻川の試料に適用したところ、26 種の PFCs が検出され、その内、7 種類がペルフルオロヘキサンスルホン酸（PFHxS）の前駆体であることが示された。本手順は未知の PFCs 前駆体の探索に適用できることが確認された。

1. はじめに

人工的に作り出された有機化合物が地球上の生物から高濃度で検出されている。テフロン[®]の製造に使われ、製品にも含まれるペルフルオロオクタン酸（以下 PFOA）について、2003 年に USEPA が「人間にとっておそらく発がん性物質である」と発表して以降、ペルオキシソームの増殖、肝臓の肥大、ステロイドホルモン生産量の変化、体重の減少、発生毒性、生殖毒性、神経毒性等の影響が報告されてきた¹⁾。近年では、腎臓、肝臓、肺に蓄積する傾向にあり、肺においては深刻な損傷発現があると報告されている²⁾。さらに、前駆体であるフッ素テロマーアルコール（以下 FTOH）の慢性毒性として、ステロイドホルモンの生産を阻害する可能性³⁾が示されている。さらに、テロマーカルボン酸類（FTCAs）⁴⁾やアルデヒド基を持つ前駆体⁵⁾が PFCs よりも強い細胞毒性を持つとの報告もある。

2016 年 1 月、沖縄県の浄水源から高濃度のペルフルオロオクタンスルホン酸（以下 PFOS）が検出された。浄水源には嘉手納空軍基地があるが、米軍は安全宣言を一方的に沖縄側に通告した。2016 年 5 月、USEPA は生涯健康勧告値としての PFOS と PFOA の合計濃度を 70 ng/L と発表した。基地排水の PFOS 最高濃度は 1,320 ng/L であり、勧告値をはるかに超えている。PFOS は疎水性と親水性を含む特徴から、通常の浄水処理では除去することが困難である⁶⁾。北谷浄水場供給水からも 80 ng/L の PFOS が検出され、住民への健康被害が心配されている。

本件の問題点は、規制対象外の化学物質（この場合、PFOS 前駆体）を浄水源で使用した結果、環境中での非意図的な分解により、毒性が強く疑われる化学物質（この場合、PFOS）が生成した点である。多くの化学物質の規制は、毒性が強く疑われる化学物質に適応されており、その前駆体については野放し状態であることが多い。より安全で安心できる社会を構築するためには、環境中での非意図的な生成を考慮した予見的適正管理手法を構築する必要がある。

2. 研究開発目的

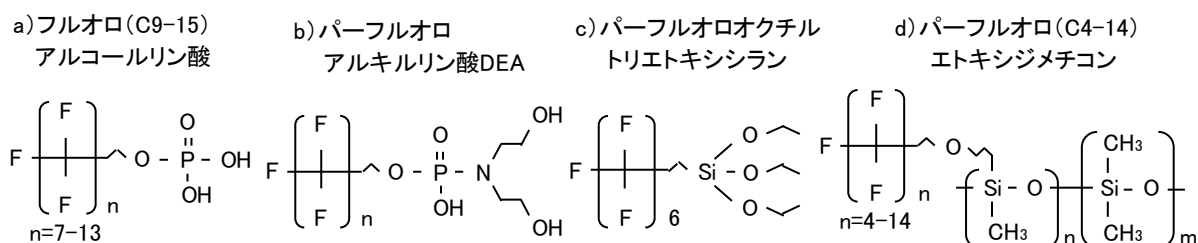
本研究ではペルフルオロ化合物類（PFCs）を対象に、環境中での非意図的生成を考慮した予見的適正管理手法を開発することを主目的とした。具体的には、下水処理、地下水環境における前駆体の変換形態を明らかにし、管理すべき前駆体を絞り込むための分析および解析手法を提案することを目的とした。

2009 年、残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約において PFOS（炭素鎖 8）と類縁化合物が附属書 B に指定された。その後、産業界では炭素鎖 6 あるいは 4 の代替化合物への移行が進んでいる。このように毒性や生物蓄積性等が明らかになると規制の対象となるが、一方で産業界は類似の機能を持つ化学物質を生み出し、その使用を強化する。類似の化合物は往々にして類似の毒性、生物蓄積性等を持つことが多く、その度に規制範囲を強化する流れが続いている。個別の物質の規制では、環境中への新たな化学物質の放出を防ぐことができないため、前駆体および中間生成体の挙動を推測し、包括的な規制を設けることが重要になる。本研究により、PFCs に変化する可能性のある化学物質を絞り込むことで、有害化学物質の規制を「後追的」から「予見的」に改善することができる。

3. 研究開発方法

(1) 化粧品中の PFCs 含有量調査

パーソナルケア製品 42,759 製品中 3,322 製品にフッ素化を意味するフルオロ関連物質が使用されていた⁷⁾。そこで本テーマでは、下水処理場への PFCs 前駆体の排出源のひとつとして化粧品に着目した。リキッド・パウダーファンデーション、化粧下地、日焼け止め、口紅、マニキュアなどの化粧品を対象に、さらに成分表示に「フルオロ」の記載のある 6 種 51 製品（日本製 30 製品、タイ製 9 製品、フランス製 7 製品、イタリア製 3 製品、インドネシア製 2 製品）を入手した。成分表示に記載されている化学物質の構造式を図(2)-1 に示す。「フルオロ（C9-15）アルコールリン酸」、「パーフルオロアルキルリン酸 DEA」、「パーフルオロオクチルトリエトキシシラン」、「ペルフルオロアルキル（C4-14）エトキシジメチコン」などが化粧品に使用されていた。

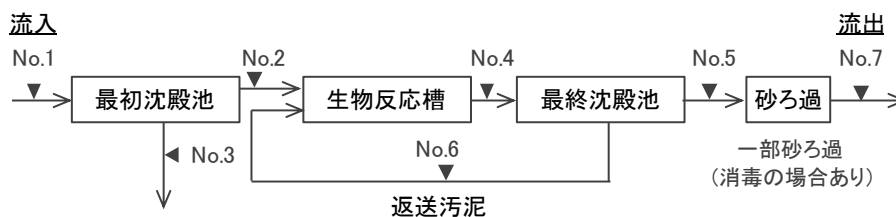


図(2)-1 化粧品で使用されていた有機フッ素化合物類の構造式

化粧品を対象に未知の PFCs 前駆体の探索を HPLC-QTOF (Agilent) を利用して行った。精密質量値/電荷比 (m/z) が 80~1,700 の範囲を対象に分析を行い、未知物質の構造の推定を行った。さらに、既知の類縁化合物類の MRM 条件から、未知物質の MRM 条件を検討し HPLC-MS/MS を用いて更なる探索を行った。

(2) 下水処理場における PFCs および diPAPs の挙動調査

2016 年 8 月に琵琶湖流域の 5 つの下水処理場（A～E）を対象に調査を行った。A～D は分流式、凝集剤添加多段硝化脱窒法であり、E は分流式（一部合流式）、凝集剤添加担体利用循環式硝化脱窒法の処理場である。主な処理工程と試料採取場所を図(2)-2 に示す。各処理場の流入水、最初沈殿流出水、最初沈殿汚泥、生物反応槽流出水、最終沈殿流出水、返送汚泥、放流水とした。

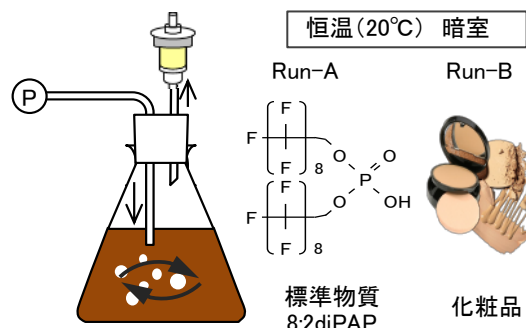


図(2)-2 主な処理工程と試料採取場所

化粧品中の PFCs, ポリフルオロアルキルリン酸エステル類 (diPAPs) の分析結果を用いて, A 処理場における化粧品由来の PFCs, diPAPs の下水流入負荷量の推定を行った。

(3) 好気条件下における前駆体の生分解試験

生分解試験の概要を図(2)-3 に示す。8:2diPAP の標準物質を添加した系 (Run-A) とフルオロ (C9-15) アルコールリン酸を含む化粧品を添加した系 (Run-B) を恒温恒湿装置 (NKsystem) 内の 20 °C 暗室で実施した。A 処理場で採取した返送汚泥液 50 mL と Milli-Q 水 50 mL を 125 mL の PP 製三角フラスコ内で混合し, 全量を 100 mL (MLSS 2,000 mg/L) とした。8:2diPAP と化粧品は, それぞれメタノールに溶解し, 8:2diPAP は 100 ng/L, 化粧品試料は 1 mg/L に調整した。メタノールの添加量は 0.1% (v/v) とした。一定時間 (0, 0.2, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48 時間) 水槽用ポンプで曝気した。さらに, 分解生成物の気相への挙動を追うため, ヘッドスペースの上部に Oasis®HLB (Waters) カートリッジを設置した。



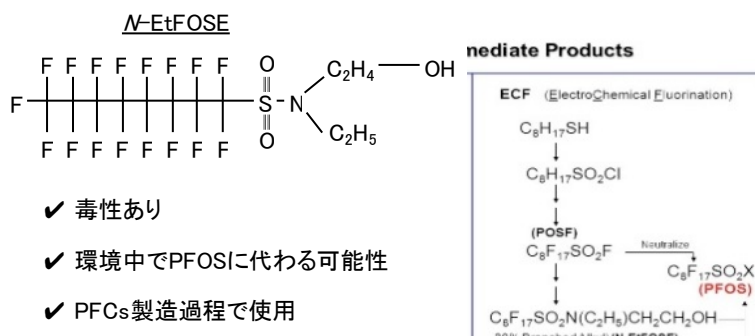
図(2)-3 生分解試験の概要

(4) 沖縄県比謝川のペルフルオロ化合物類汚染の現況調査

沖縄県は以前から PFOS 汚染が深刻で, 各種新聞等でも取り上げられており問題となっている地域である。PFOS は原則使用が禁止されているに関わらず, 現在でも環境中で検出されることから前駆体から PFCs が生成している可能性が指摘されているが, 前駆体に関する知見が乏しく未だ原因の特定ができていない。本研究では 2016 年 10 月 10 日に沖縄県比謝川流域の PFCs 汚染の現況調査を行った。

(5) 地下水中における前駆体からの PFCs 生成過程の検証

本実験では, 添加前駆体として *N*-EtFOSE を使用し地下水環境下での PFCs 生成経路の推定実験を行った。添加した前駆体の概要を図(2)-4 に示す。既往の文献で *N*-EtFOSE それ自体毒性が指摘されている物質であり, 環境中で分解され PFOS に代わる可能性や PFCs 製造過程の副生成物として生成されている物質である。本実験では PFOS の高濃度汚染が指摘されている沖縄県の地下水 K16 を使用した。

図(2)-4 *N*-EtFOSE の構造式と主な特

実験容器は PP ボトルを使用し、空気が入らないよう満水になるまで実験水を入れパラフィルムをキャップに巻き、密閉状態を確保した。井戸水の系、井戸水に *N*-EtFOSE を添加した系の 2 系統を作成し、系統 2 では初期添加濃度を 5,000 ng/L とした。測定日は 2 か月間で計 5 回 (0,7,14,30,60 日) 行い、測定項目は 15PFCs, 15PFC-FPs, 16 前駆体とした。

(6) 前処理および分析の方法

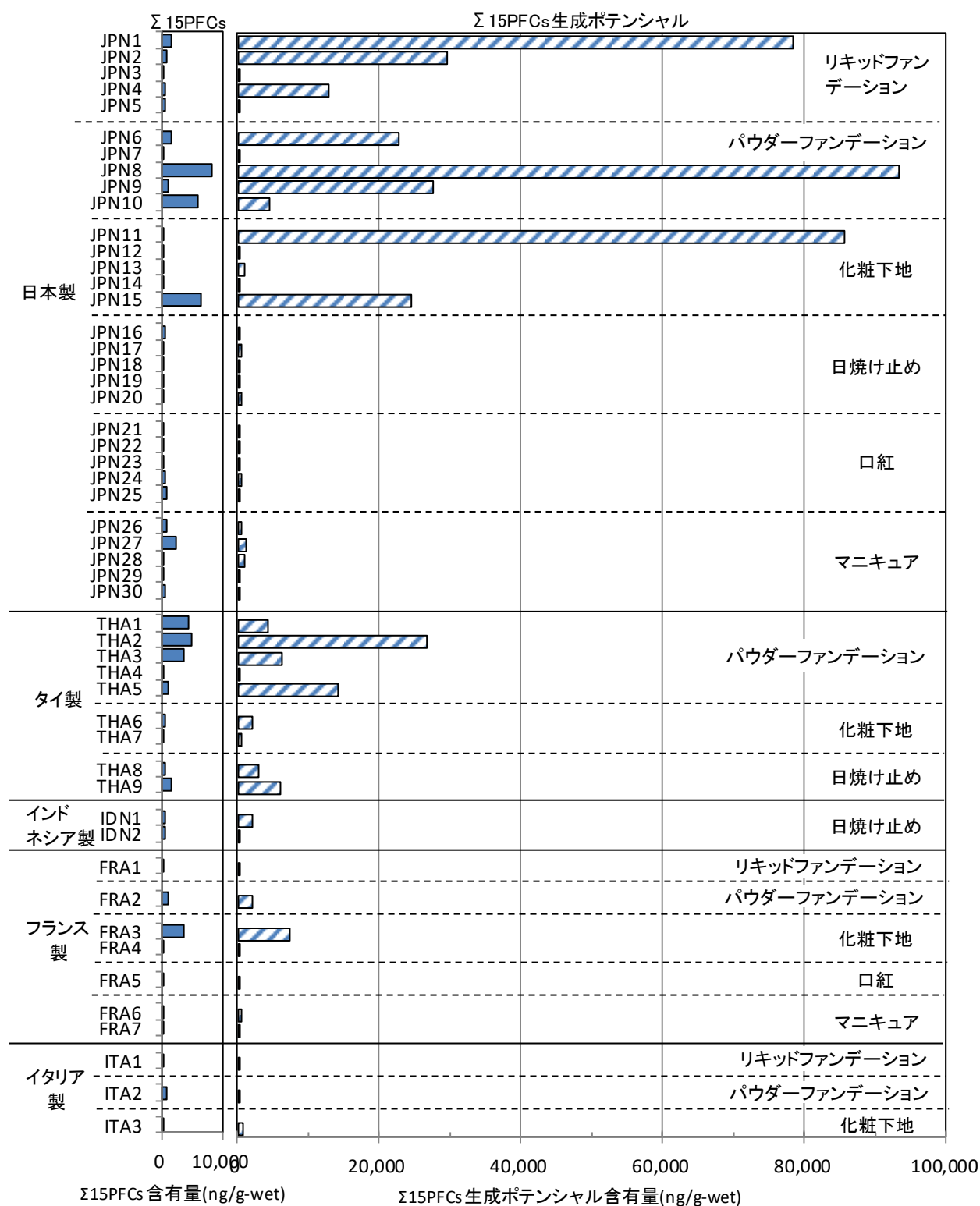
メタノールで振とうした化粧品試料 (10 mg) 入りの遠沈管に Metyl tert-buthyl ether (MTBE) を加え、イオンペア抽出を行った。遠心分離後、上澄みの MTBE 層を別の遠沈管に分取し、同操作を繰り返し行った。分取した MTBE に窒素パージし、乾固しないようにメタノールに置換した。クリーンアップとして、0.2 μ m シリンジフィルターでろ過し、ENVI-carb (250 mg, Supelco) に通液した。最終的に 5 mL のメタノールに定容し検液とした。下水流入水、最初沈殿流出水はガラス繊維ろ紙を用いて、最初沈殿汚泥、生物反応槽流出水、返送汚泥および生分解試験用の活性汚泥混合液は遠心分離器を用いて溶存態と懸濁態に分けた。最終沈殿流出水、放流水は、溶存態試料のみを対象とした。懸濁態試料は凍結乾燥させ、汚泥試料は乾燥重量 0.025 mg を分析試料とした。メタノールを用いて 30 分間振とう抽出させ、遠心分離後に同様のクリーンアップを行い、同操作を 2 回繰り返した。生分解試験の気相を捕集した HLB カートリッジは試験後、メタノールを用いて対象物質を溶出した。

12 種のペルフルオロカルボン酸類 (PFCAs), 3 種のペルフルオロアルキルスルホン酸類 (PFASs) の計 15 種の PFCs に加えて、5 種の PAPs, 5 種のフッ素テロマーアルコール類 (FTOHs), 8 種のフッ素テロマーカルボン酸類 (FTCAs, FTUCAs), 3 種のフッ素テロマースルホン酸類 (FTSs), 5 種のペルフルオロスルホンアミド類 (FOSAs, FOSEs) の計 26 種の前駆体も同時に分析した。15 種の PFCs と 21 種の前駆体の測定は、HPLC-MS/MS で行った。5 種の FTOHs の測定には GC-MS/MS を用いた。装置検出下限値は、PFCs が 0.01~0.03 ng/mL, 前駆体が 0.02~0.67 ng/mL であった。化粧品試料については、上述の前処理で調整した酸化分解前試料に NaOH 水溶液、酸化剤として用いたペルオキシ二硫酸カリウム ($K_2S_2O_8$) を順に供試した。NaOH が 150 mM, $K_2S_2O_8$ が 60 mM となるよう試料を調整し、オートクレーブで 95°C, 24 時間の条件で加温した。操作終了後は直ちに冷却し前処理に供試した。本手順を加えて生成した PFCs 量を PFCs 生成ポテンシャルと定義し、指標のひとつとした。

4. 結果及び考察

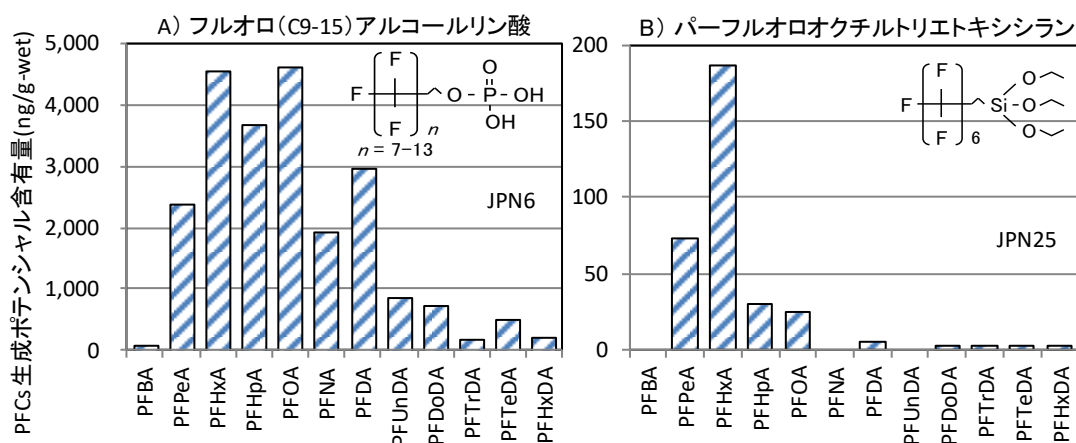
(1) 化粧品中の PFCs 生成ポテンシャル量と前駆体の探索

6 種類 51 製品の化粧品中の PFCs 含有量と PFCs 生成ポテンシャル含有量を図(2)-5 に示す。すべての製品から PFCs が検出され 15 種の PFCs の総含有量 (Σ 15PFCs) は 114~8,170 ng/g-wet であった (平均値 1,220, 中央値 457)。製品別ではパウダーファンデーションが他の 5 種と比較して有意に高い Σ 15PFCs 含有量を示した (*t* 検定, $p < 0.05$)。同じくすべての製品から PFCs 生成ポテンシャルが検出され 15 種の PFCs 生成ポテンシャルの総含有量 (Σ 15PFC-FPs) は 42~93,200 ng/g-wet であった (平均値 9,120, 中央値 507)。製品別ではリキッドファンデーション、パウダーファンデーション、化粧下地から高い PFCs 生成ポテンシャル含有量を検出した。51 製品中 30 製品で PFCs よりも高い PFCs 生成ポテンシャル含有量が検出され、最大で 199 倍であった。PFCs と PFCs 生成ポテンシャル含有量の相関係数は 0.47 であり、正の相関があった。



図(2)-5 化粧品 6 種 51 製品中の PFCs および PFCs 生成ポテンシャル含有量

炭素鎖長別の PFCAs と PFCAs 生成ポテンシャル含有量を図(2)-6 に示す。「フルオロ (C9-15) アルコールリン酸」を原料に含むパウダーファンデーションからは、炭素鎖長 5~12 の PFCAs 生成ポテンシャルが 732 ~4,623 ng/g-wet で検出された。一方、炭素鎖長 6 の「パーフルオロオクチルトリエトキシシラン」を含む口紅からは、炭素鎖長 6 の PFHxA と炭素鎖長 5 の PFPeA の生成ポテンシャルが検出された。原材料に含まれる「フルオロ」を含む成分の炭素鎖長と検出された PFCs 生成ポテンシャルに占める同炭素鎖長の PFCs 含有量の特徴が類似したことから、「フルオロ」を含むこれらの成分が、PFCs の前駆体であることが示唆された。

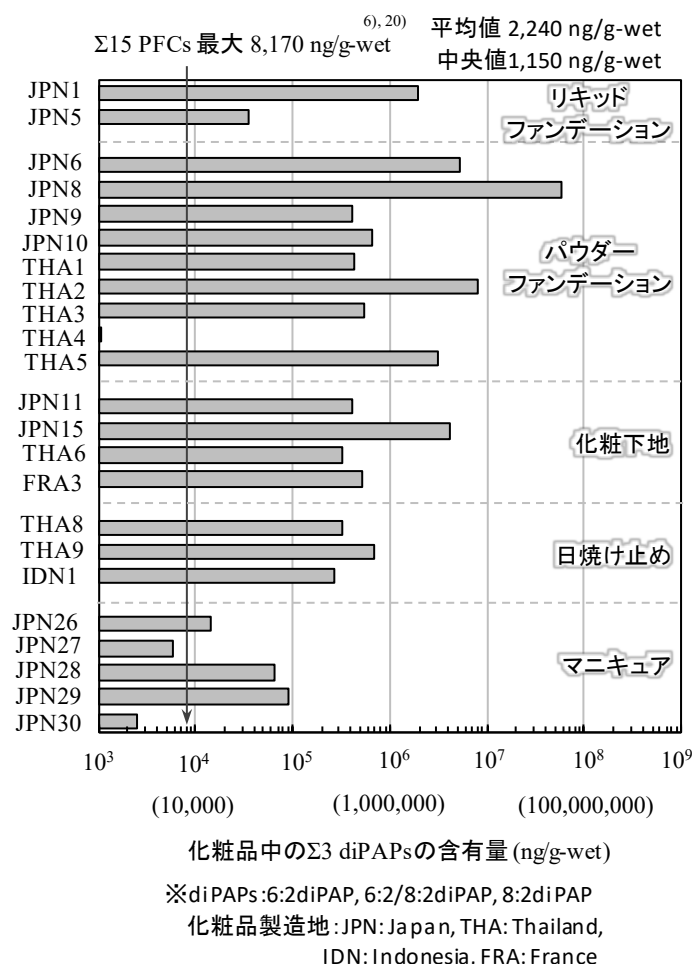


図(2)-6 化粧品中の PFCs 生成ポテンシャル含有量(炭素鎖長別)

化粧品中の 6:2diPAP, 6:2/8:2diPAP, 8:2diPAP の含有量を図(2)-7 に示す。Σ3 diPAPs は 1,030~58,500,000 ng/g-wet であり、中央値は 416,000 ng/g-wet であった。ファンデーション、化粧下地、日焼け止め中の含有量は、6:2diPAPs 780~12,000,000 ng/g-wet, 6:2/8:2diPAPs 226~39,900,000 ng/g-wet, 8:2diPAPs 19~6,590,000 ng/g-wet であり、マニキュアと比較して高含有量であった。化粧品中の Σ15 PFCs 含有量は 417~8,170 ng/g-wet であり、内訳は、PFHxA 39~2,170 ng/g-wet, PFOA 6~1,960 ng/g-wet, PFOS 4~28 ng/g-wet であった。

化粧品からは、6:2diPAP, 6:2/8:2diPAP, 8:2diPAP に加え、14 種の diPAPs (4:2/6:2diPAP, 4:2/8:2diPAP, 4:2/10:2diPAP, 4:2/12:2diPAP, 6:2/10:2diPAP, 4:2/14:2diPAP, 6:2/12:2diPAP, 8:2/10:2diPAP, 6:2/14:2diPAP, 8:2/12:2diPAP, 10:2diPAP, 6:2/16:2diPAP, 8:2/14:2diPAP, 10:2/12:2diPAP)と予想されるピークを新たに確認した。

化粧品 ($n=23$) 中の 28 種の diPAPs の S/N を算出した結果、主に 4:2/6:2diPAP, 4:2/8:2diPAP, 6:2diPAP, 4:2/10:2diPAP, 6:2/8:2diPAP, 4:2/12:2diPAP, 6:2/10:2diPAP, 8:2diPAP, 4:2/14:2diPAP, 6:2/12:2diPAP, 8:2/10:2diPAP, 6:2/14:2diPAP, 8:2/12:2diPAP, 10:2diPAP, 6:2/16:2diPAP, 8:2/14:2diPAP, 10:2/12:2diPAP と予想されるピーク ($S/N > 3$) を確認した。その中でも 6:2diPAP, 6:2/8:2diPAP, 6:2/10:2diPAP, 8:2diPAP, 8:2/10:2diPAP の S/N は 10 以上であり (23 製品中 20 製品)、「フルオロ (C9-15) アルコールリン酸」, 「フルオロ (C8-18) アルコールリン酸」, 「パーフルオロアルキルリン酸 DEA」の化粧品成分の主な化学物質であった。これら製品中の PAPs は洗い流しにより、下水処理場へ流入する可能性が考えられた。5 種類の PAPs を対象とすると、パウダーファンデーション (JPN8) から、76,800,000 ng/g-wet の PAPs を検出した。PAPs の環境中での変化を追うことは重要な研究課題であることが示された。

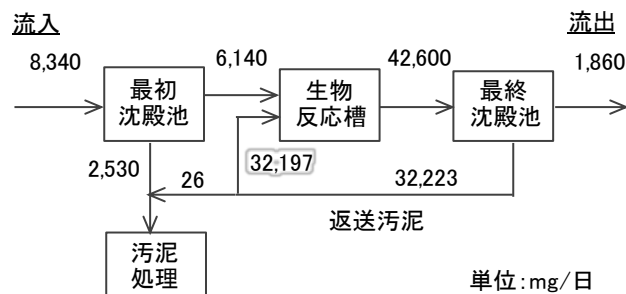


図(2)-7 化粧品中のポリフルオロアルキルリン酸エステル類含有

(2) 下水処理場における PFCs 前駆体の挙動と化粧品からの負荷の推定

A 下水処理場における 3 種の PAPs の挙動を図(2)-8 に示す。流入水中の濃度は 6:2diPAP, 6:2/8:2diPAP, 8:2diPAP とともに 12 ng/L であったが、最初沈殿池汚泥から 236~250 ng/L の diPAP がそれぞれ検出された。返送汚泥からも 80~97 ng/L の diPAP が検出されており、放流水中からは 1~2 ng/L であった。つまり、返送汚泥を通じて生物反応槽内で循環していることが示唆された。他の 4 つの下水処理場でも同様の傾向が見られた。

流量情報を掛け合わせて A 下水処理場における物質収支を計算した結果を図(2)-9 に示す。日流入量は 8,340 mg/日であり、1,860 mg/日が下水処理場から流出した。最初沈殿池では 2,530 mg/日が汚泥に吸着し処理されたが、6,140 mg/日は生物反応槽に流入した。返送汚泥から 32,197 mg/日の diPAPs が生物反応槽に循環しており、流入負荷量の 5 倍にあたる 42,600 mg/日の diPAPs が生物反応槽に存在することが読み取れた。



※ $\Sigma 3\text{diPAPs} = 6:2\text{diPAP} + 6:2/8:2\text{diPAP} + 8:2\text{diPAP}$

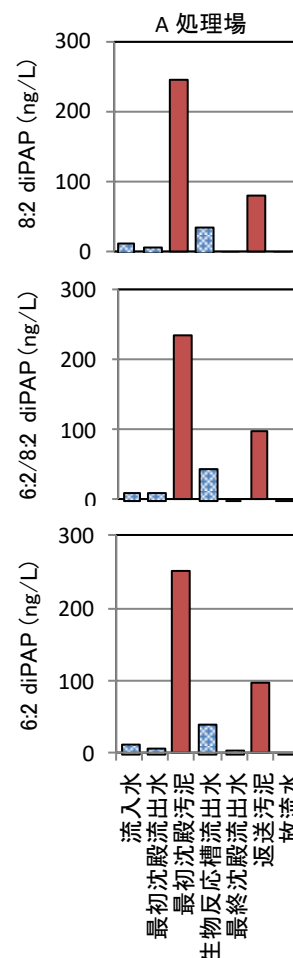
図(2)-9 A 処理場における $\Sigma 3\text{diPAPs}$ の負荷量

滋賀県の 15~64 歳の女性人口に、一人一日あたりのファンデーション使用量 0.1 g, PAPs を含むと予想されるファンデーションの割合 9% を掛け合わせ、滋賀県全体に対する A 処理場の処理人口率を考慮して A 処理場に流入するファンデーション由来の 3 種の diPAPs 総量を推定したところ 1,180 mg/日であった。実測値の流入負荷量は 8,340 mg/日であり、14.2% の diPAPs がファンデーション由来であることが示された。

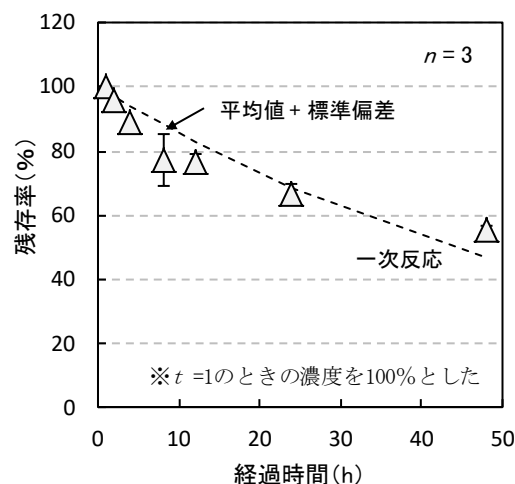
(3) 好気条件下における前駆体からの分解生成物の挙動

8:2diPAP の添加系 (Run-A) における 8:2diPAP の残存率の経時変化を図(2)-10 に示す。反応時間 1~24 時間までは一次反応式よりも分解が早く進み、24~48 時間にかけては、緩やかな分解速度となった。一次反応と仮定した場合の分解定数は 0.016 h^{-1} 、半減期は 44 時間であった。

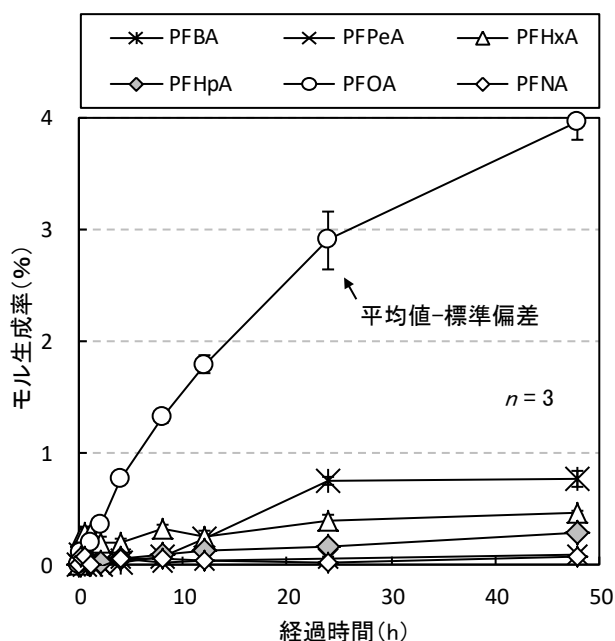
「炭素鎖長 4~9 の PFCAs のモル量」を分子に、「添加した 8:2diPAP のモル量」の分母とした値をモル生成率 (%) として計算し、それらの経時変化を図(2)-11 に示す。48 時間の生物分解によりモル生成率 4.0% の PFOA の生成が確認された。その他炭素鎖長 4, 5, 6, 7, 9 の PFCAs の生成も 1.0% 未満ではあるが確認された。



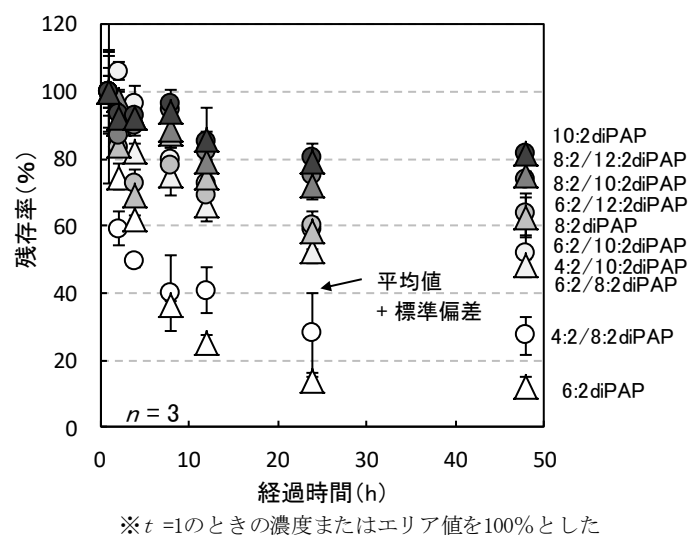
図(2)-8 下水処理場におけるポリフルオロアルキルリン酸エステル類の挙動



図(2)-10 8:2diPAP の残存率の経時変



図(2)-11 8:2diPAPの生物分解におけるモル生成

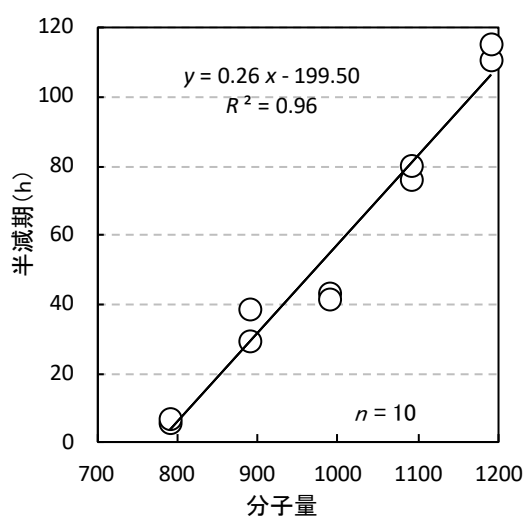


図(2)-12 活性汚泥系における化粧品中の

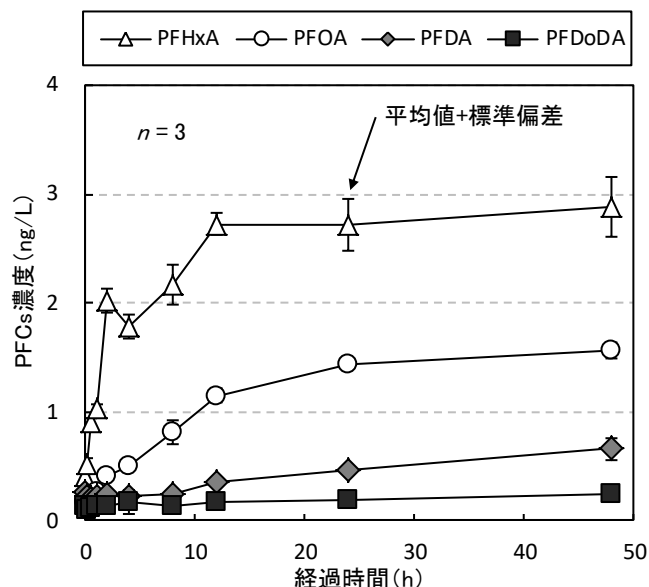
化粧品添加系 (Run-B) における 10 種の diPAPs の残存率の経時変化を図(2)-12 に示す。すべての diPAPs 濃度は経過時間とともに減少し、1~24 時間までは一次反応よりも分解が早く進み、24~48 時間にかけては緩やかな分解速度となった。最も分解速度が速かったのは 6:2diPAP であり 48 時間で 88% が分解した。最も分解速度が遅かった物質は 10:2diPAP であり、48 時間で 19% の分解率であった。一次反応と仮定した場合の分解定数は $0.006 \sim 0.100 \text{ h}^{-1}$ 、半減期は 7~111 h であった。

10 種の diPAPs における分子量と半減期の関係を図(2)-13 に示す。分子量が大きくなるにつれて、半減期が長くなる傾向 ($R^2 = 0.96$) が示唆された。

化粧品添加系 (Run-B) における PFCAs 濃度の経時変化を図(2)-14 に示す。実験開始後、特に PFHxA 濃度が上昇し、12 時間後には 2.7 ng/L となり、以降、48 時間後まで 2.9 ng/L であった。PFOA 濃度も徐々に上昇し 48 時間後には 1.6 ng/L となった。



図(2)-13 10 種の diPAPs の半減期と分子量の関



図(2)-14 化粧品添加系における PFCAs 濃度の経

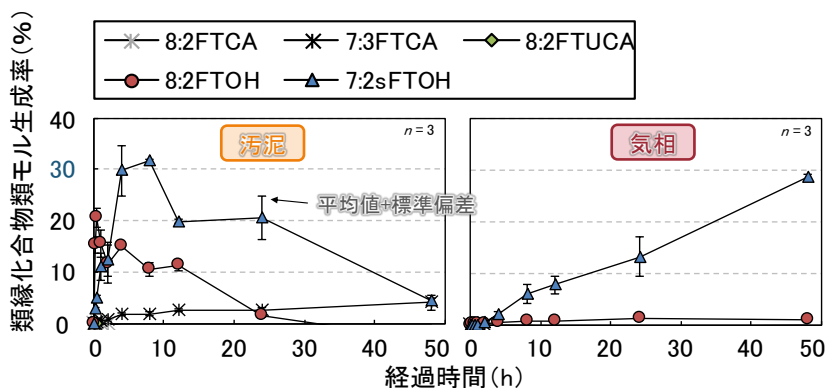
PFCs 中間生成体のモル生成率の経時変化を図(2)-

15 に示す。1~8 時間後まで 7:2sFTOH の生成率は上昇し、最大 32% まで上昇した。その後減少傾向となり 48 時間後には 4% となった。右図は気相中での経時変化を示す。7:2sFTOH の気相中での濃度は経過時間とも

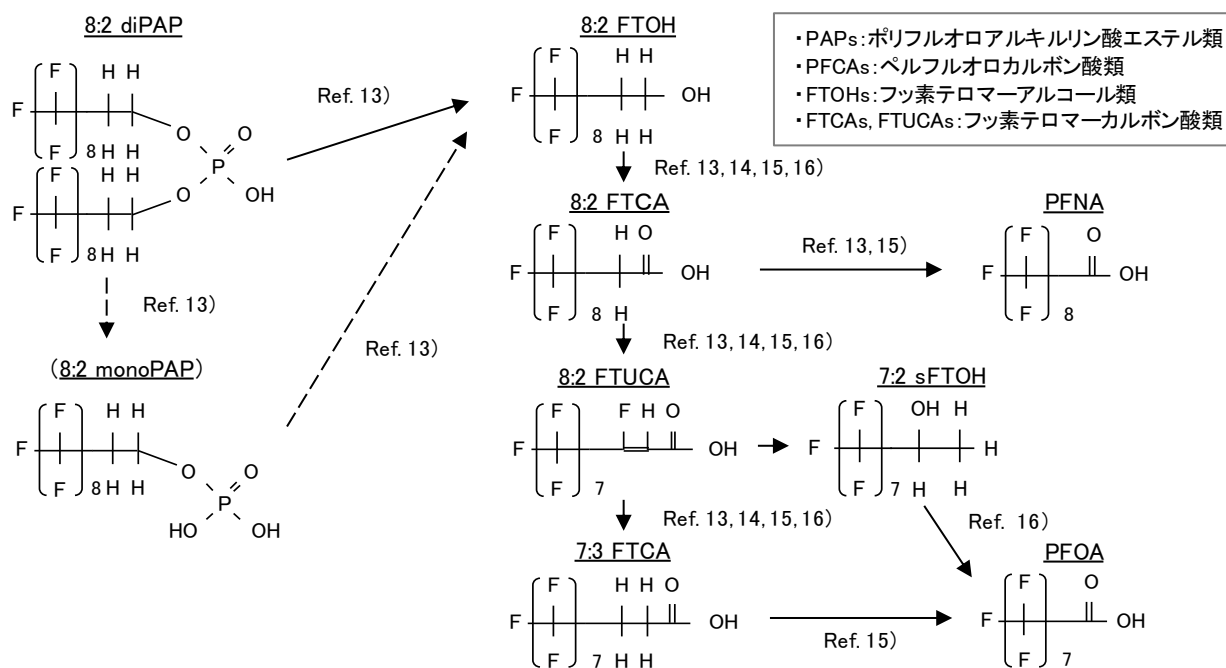
に上昇し、48 時間後にはモル生成率で 29% となった。つまり、汚泥中で 8:2didPAP から 7:2sFTOH に生分解し、その後、気相へと移行していることが示唆された。

8:2diPAP からの予想される分解経路を図(2)-16 に示す。8:2diPAP から主に 8:2FTOH, 8:2FTCA, 8:2FTUCA, 7:3FTCA もしくは 7:2sFTOH を経由して PFOA を生成すると予想された。

これらの分解経路は、ペルフルオロアルキル鎖長の異なる n:2diPAPs も同様の経路であると考えられる。



図(2)-15 化粧品添加系における中間生成体のモル生成率の経時変

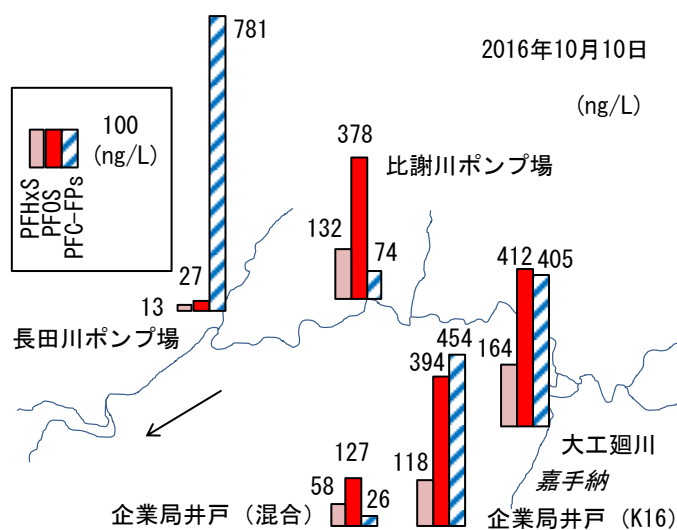


図(2)-16 8:2diPAP の予想される分解経路^{13~16)}

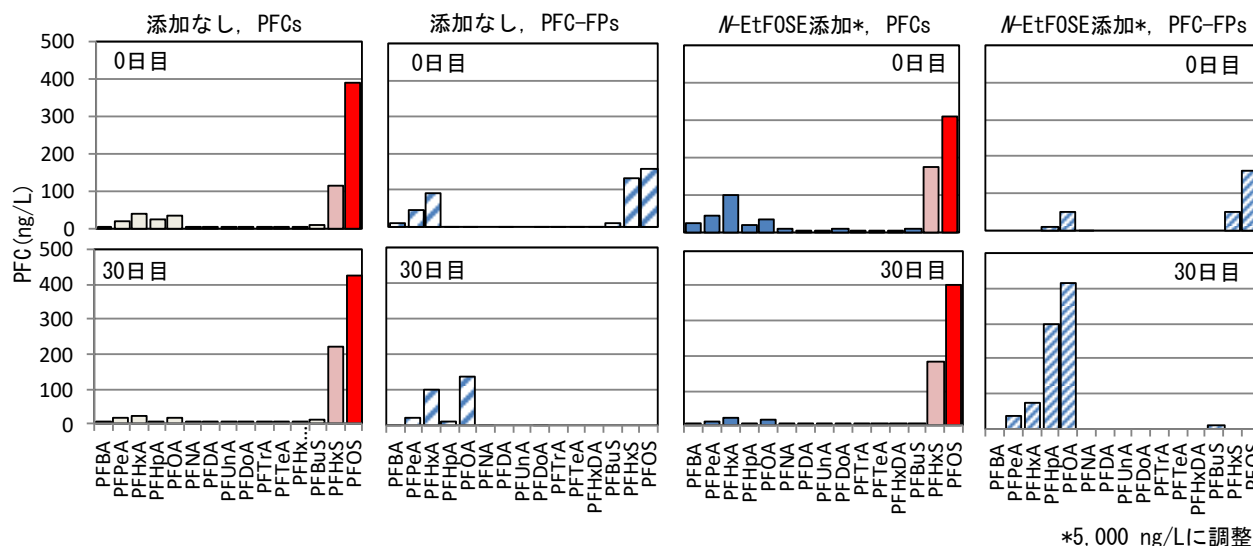
(4) 沖縄県比謝川のペルフルオロ化合物類汚染

比謝川周辺における PFHxS, PFOS 濃度と PFCs 生成ポテンシャル濃度を図(2)-17 に示す。

①企業局井戸 (混合), ②企業局井戸 (K16), ③大工廻川, ④比謝川ポンプ場, ⑤長田川ポンプ場の水を採取し試料とした。大工廻川で PFOS 412 ng/L, PFHxS 164 ng/L, PFC-FPs 405 ng/L を検出した。長田川ポンプ場では 781 ng/L の PFC-FPs を検出した。長田川上流にも異なる PFCs 汚染源が存在する可能性が示唆された。



図(2)-17 比謝川における PFHxS, PFOS 濃度と生成ポテンシ



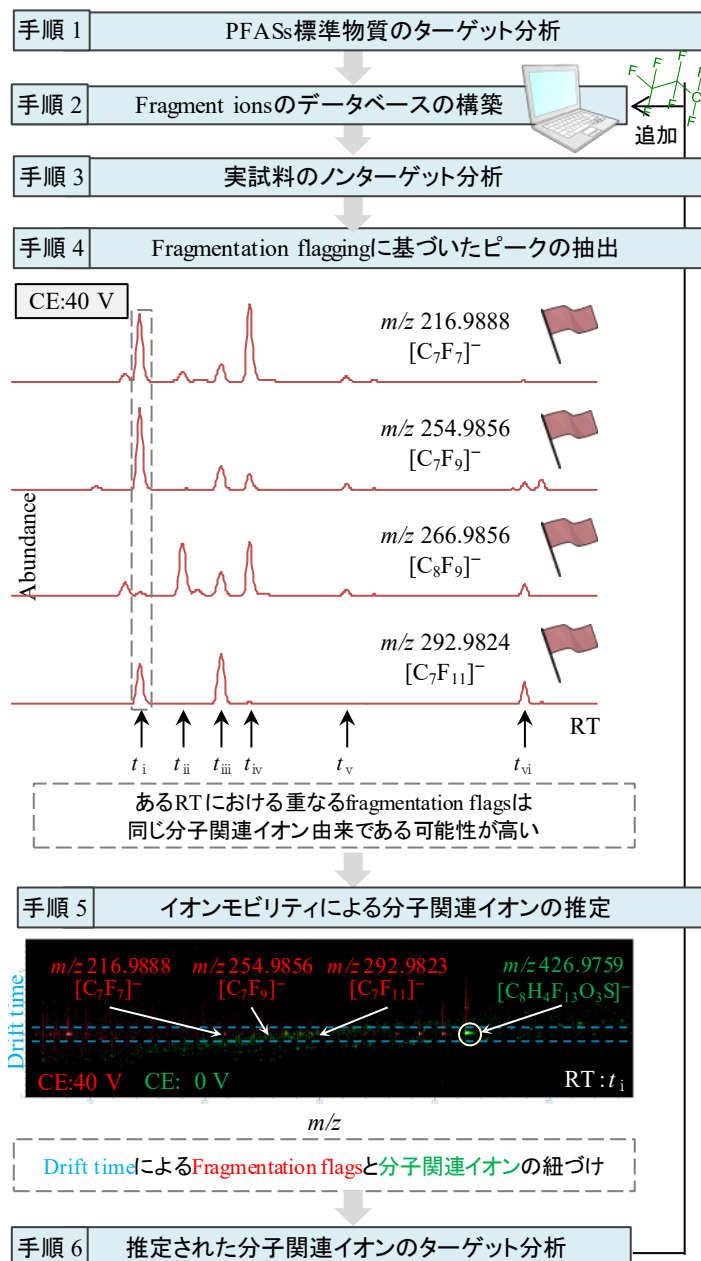
図(2)-18 比謝川上流の地下水を30日間20℃暗所保存後のPFCs濃度とPFCs生成ポテンシャル濃

(5) 地下水環境におけるPFC-FPsの挙動

実験開始時と30日後のPFCs, PFC-FPs濃度を図(2)-18に示す。②企業局井戸水を30日間20℃暗所保存した結果、PFOSで33 ng/L, PFHxSで102 ng/L上昇した。*N*-EtFOSEを添加した系では30日後にPFOA-FPが368 ng/L, PFHpA-FPが289 ng/L上昇し、Σ15PFC-FPsでは795 ng/L上昇した。*N*-EtFOSEは地下水環境において30日間で、主にPFOA, PFHpAの生成ポテンシャルが変わることが示唆された。

(6) PFCs データベースの構築と Fragmentation flags の選定

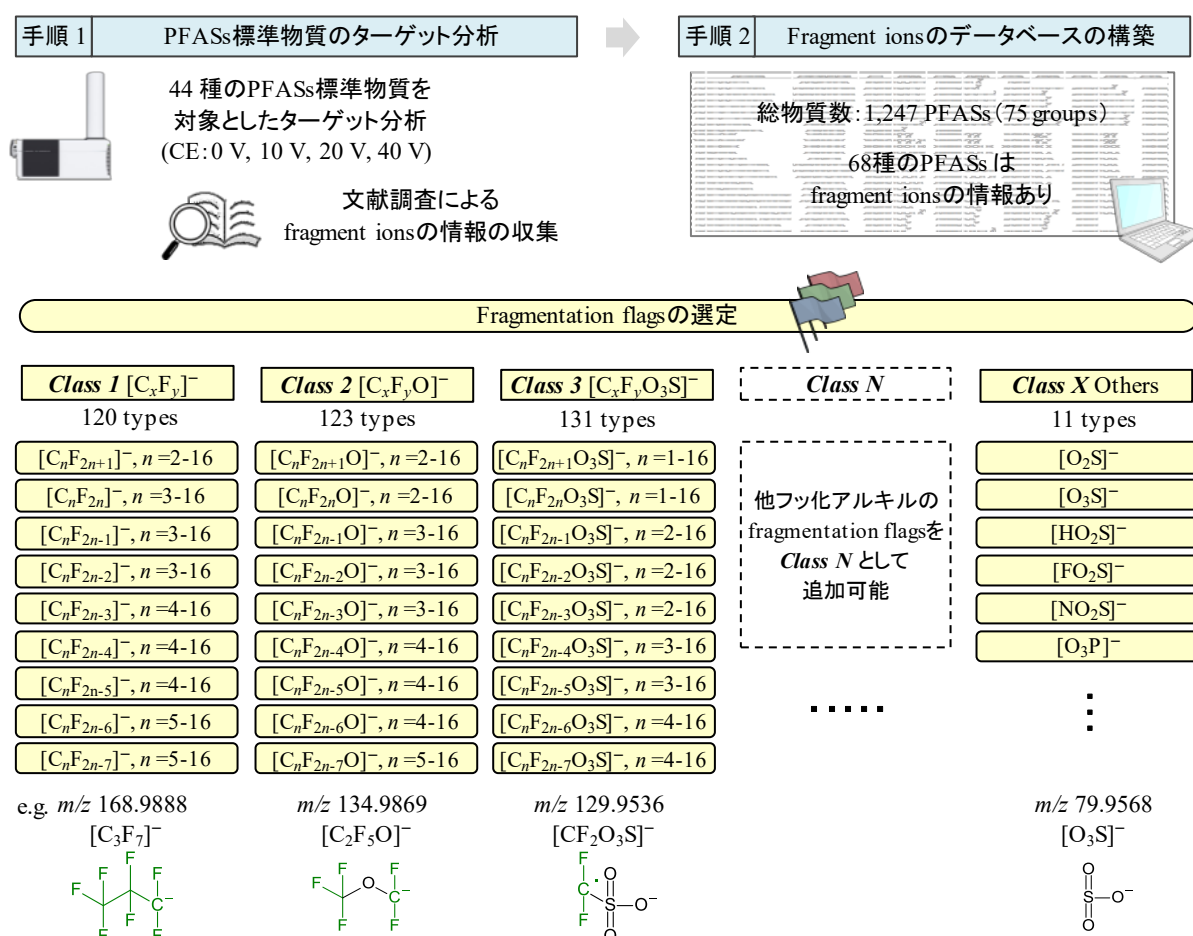
液体クロマトグラフィーイオンモビリティ型四重極飛行時間型質量分析計 (LC/IM-QTOF-MS, Agilent) を用いて, fragmentation flagging に基づいた未知のPFCsのノンターゲット分析手順を検討した。手順を図(2)-19に示す。手順1ではPFCs標準物質をターゲット分析し, 手順2においてFragment ionsのデータベースを構築した。その後, 手順3において実試料のノンターゲット分析を実施し, 手順4では, Fragmentation flagging に基づいたピークを抽出, 手順5ではイオンモビリティによる分子関連イオンの推定を行い, 最終的に手順6において, 推定された分子関連イオンのターゲット分析を行う手順とした。



図(2)-19 Fragmentation flagging に基づいたノンターゲット分析手順

44 種類の標準物質 (PFCAs12 種, PFASs3 種, PAPs5 種, FTOHs6 種, FTSSs3 種, FTCAAs5 種, FTUCAs3 種, FOSAs3 種, FOSEs2 種, FOAAs2 種) のターゲット分析の結果および既報文献の情報を元に PFCs のデータベースを構築した。コリジョンエネルギー (CE) は 0, 10, 20, 40 (V) の 4 種類, イオン化はエレクトロスプレーイオン化のネガティブモード, マス範囲は $m/z = 50 \sim 1,700$ とした。既報^{8~12)}を参考に, 本研究で対象とした 44 種以外の PFASs の Fragment ion の情報をデータベースに追加した。PFCs のデータベースにおける Fragment ion の共通部分など体系的に整理した。その中から PFCs の標識として利用できると思われる Fragment ion を Fragmentation flags とし, 以降のノンターゲット分析に用いた。

PFCs のデータベースと Fragmentation flags の選定手順を図(2)-20 に示す。本データベースでは原則 C4~16 のペルフルオロアルキル基を有する PFCs とした。PFCs の総物質数は 1,247 であり, その分類は 75 であった。その内, Fragment ion の情報がある物質数は 68 であった。



図(2)-20 PFASs データベースの構築および Fragmentation flags の選定

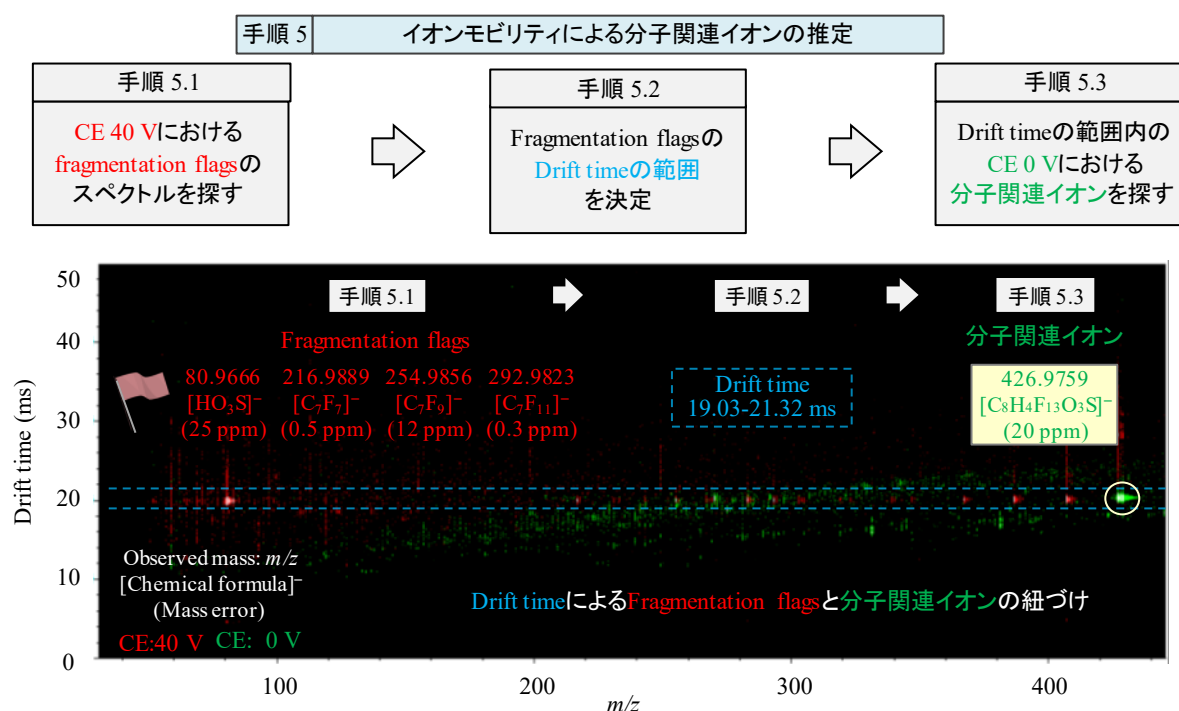
得られた種々の Fragment ion の中でも検出頻度の高いものを Fragmentation flags として選定し, **Class 1** ~ **Class 3** に分類した。**Class 1** [C_nF_m]⁻では 120 種類 (例: [C_nF_{2n+1}]⁻, n=2~16, [C_nF_{2n}]⁻, n=3~16) を Fragmentation flags として選定した。同様に, **Class 2** [C_nF_mO]⁻では 123 種類 ([C_nF_{2n+1}O]⁻, n=2~16, [C_nF_{2n}O]⁻, n=2~16), **Class 3** [C_nF_mO₃S]⁻では 131 種類 ([C_nF_{2n+1}O₃S]⁻, n=1~16, [C_nF_{2n}O₃S]⁻, n=1~16) を選定した。**Class N** (C_nF_mを含む)では上記以外の Fragmentation flags とし, 任意で追加できるという位置づけとした。**Class X** その他 (C_nF_mを含まない) では 11 種類であった。本研究では, **Class 1**, **Class 2**, **Class 3**, **Class X** の Fragmentation flags を用いて, 以降のノンターゲット分析を行った。

得られたトータルイオンクロマトグラム(TIC)から Fragmentation flags の抽出イオンクロマトグラム(EIC)を ± 20 ppm で抜き出し、Fragmentation flags の種類ごとに整理した。PFCs と予想されるピークを抽出する上で、同じ保持時間(RT)に位置する各 Fragmentation flags の EIC は同じ分子関連イオン由来であると予想される。RT が ± 0.01 分の範囲内にあるピークは同一物質由来であると判断し、ひとつの集合体(Flag Set)として整理した。前述した Frag Set の分子関連イオンは PFASs であると予想され、次にその分子関連イオンの m/z の推定を試みた。

(8) イオンモビリティによる分子関連イオンの m/z の推定

CE が 0V の TIC における Flag set と同じ RT のマススペクトルを確認する必要がある。しかしながら、分子関連イオンの候補がいくつか存在し、ひとつに絞ることは困難であると予想される。本研究では、イオンモビリティを用いて、分子関連イオンの m/z の推定を試みた。イオンモビリティとは、イオンの衝突断面積、つまりイオンの大きさ、形状、電荷、質量により分離する技術である。LC によるカラム分離を行った後に、イオンモビリティによる Drift time から再度分離することが可能である。さらに、イオンモビリティで分離後、CE により Fragment ion を生成するため、分子関連イオンと Fragment ion の Drift time が同じ時間を示すと考えられる。つまり分子関連イオンと Fragment ion を Drift time に紐づけすることができる。

各 Frag Set における分子関連イオンの m/z の推定するために、イオンモビリティを用いた Drift time による分離を試みた。Flag Set 2 を例としたイオンモビリティによる分子関連イオンの m/z の推定法の手順を図(2)-22 に示す。CE が 0 V (緑) , 40 V (赤) における各 Drift time 別のスペクトルが示されている。Fragmentation flags と分子関連イオンは同じ Drift time を示すと予想される。つまり、Fragmentation flags と分子関連イオンを Drift time により紐づけすることができる。



図(2)-22 イオンモビリティによる分子関連イオンの推定

イオンモビリティによる分子関連イオンの m/z の推定法の手順を以下に示す。(手順 5.1) CE 40V における Fragmentation flags のスペクトルを探す。 m/z 79.9574, [O₃S]⁻, m/z 129.9554, [CF₂O₃S]⁻, m/z 168.9930, [C₃F₇]⁻などの Fragmentation flags が確認された。(手順 5.2) Fragmentation flags のスペクトルの Drift time の範囲を決定する。本結果では、Fragmentation flags が確認された Drift time は 19.03~21.32 ms であった。(手順 5.3) CE 0V

における決定した Drift time 中の最大強度を示す m/z を分子関連イオンの m/z とする。CE 0V における Drift time が 18.91-20.48 ms の最大強度を示した m/z は 426.9759 であった。PFASs の標準物質を対象に同様の検討を行った結果、すべての物質で分子関連イオンの m/z の推定が可能となり、今後は実試料に対する適用を検討する段階である。

Fragmentation flagging に基づいたノンターゲット分析により抽出された 9 つの Frag Set 1～Frag Set 9 を対象とした。各 Frag Set における分子関連イオンの m/z を推定した結果、 m/z 312.9719 (Flag Set 1), m/z 426.9759 (2), m/z 569.0863 (3), m/z 458.9449 (4), m/z 511.0743 (5), m/z 425.9821 (6), m/z 835.9571 (7), m/z 907.0223 (8), m/z 771.9868 (9)であると予想された。その結果と PFCs のデータベースを照合すると、Flag Set 1 は PFHxA, Flag Set 2 は 6:2 FTS であることが示唆された。また、Flag Set 6 は $[\text{C}_8\text{H}_5\text{F}_{13}\text{N}_2\text{OS}]^-$ である C6 のペルフルオロアルキル基を有するテロマーであると予想された。さらに、Flag Set 7, 9 は断片イオンとして $[\text{C}_8\text{H}_5\text{F}_{13}\text{N}_2\text{OS}]^-$ が確認されたため、Flag Set 6 の物質と類縁化合物類である可能性が示唆された。Flag Set 8 は断片イオンとして $[\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{F}_{13}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}]^-$ が確認されたため、C6 のペルフルオロアルキルを基盤構造とする PFCs であると予想された。今後は推定された分子関連イオンの m/z の情報をもとにターゲット分析を行い、Fragment ion の情報を踏まえて、組成式、化学構造を決定していく必要がある。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本サブテーマにより、化粧品中に有機フッ素化合物類（PFCs）の前駆体が存在しており、特にポリフルオロアルキルリン酸類（PAPs）が高濃度（ファンデーションから最大 76,800,000 ng/g-wet）で含有されていることが明らかとなった。これらは洗い流しにより下水処理場に流れ込み、8:2diPAP が返送汚泥を通じて、下水処理場で循環していることが明らかとなった。さらに、活性汚泥を用いた回分式試験により、8:2diPAP から種々の PFCs が生成していることが明らかとなった。PFOA 等は汚泥中で生成され、いくつかはアルコール体となり気相に移行していることが分かった（8:2diPAP のうちモル生成率で 29% が 7:2sFTOH として気相へ移行）。化粧品の他にも消火剤中に PFCs の前駆体が存在していることが明らかとなり、前駆体のひとつである *N*-EtFOSE から PFOS, PFOA, PFHxA などが生成し、中間生成体もモル生成率で 14% 生成することが分かった。

不活化ガスで前駆体を分解し断片イオンを標識として活用する手順を検討し、44 種類の標準物質から 1,247 の断片イオンの情報をデータベース化した。さらに PFCs については、前駆体と断片イオンの衝突断面エネルギーが近似する傾向を見出し、それらによる関連性を探索手順に加えることで、Fragmentation Flagging を用いた未知ペルフルオロ化合物類の前駆体の探索手法を開発した。本手法を沖縄県嘉手納基地近辺の大工廻川の試料に適用したところ、26 種の PFCs が検出され、その内、7 種類が PFHxS の前駆体であることが示された。

(2) 環境政策への貢献

本サブテーマにより、化粧品や消火剤の一部に PFOS, PFOA 等の前駆体が存在しており、下水処理場中の生物処理や地下水環境において、PFOS や PFOA 等に変換していることが示された。PFOS は 2009 年にストックホルム条約の附属書 B で規制された物質であり、PFOA とその類縁化合物類についても 2019 年にストックホルム条約の附属書 A で規制されることが予定されている物質群である。生物処理過程では、前駆体からアルコール体への変換が確認され、一部は大気に移行していることが確認された。今後は大気への移行を考慮した包括的な管理が重要である。本サブテーマにより、これらの前駆体の環境中での変換過程に関するデータを蓄積することができた。

さらに、これまで困難であった未知の PFCs 前駆体を探索する手順を構築した。本手順を使用することで、水試料中の未知の PFCs 前駆体の探索が可能となった。沖縄県企業局と共同で北谷浄水場の水源となっている河川水に本手法を適用したところ、26 種の PFCs が検出され、その内、7 種類が PFHxS の前駆体であることが示された。現在はさらに汚染が深刻な嘉手納基地内の井戸水を対象に、本手順を適用し、PFCs に変化する可能性のある前駆体の絞り込みを行っているところである。

<行政が既に活用した成果>

沖縄県企業局と共同で北谷浄水場の水源となっている河川水に本手法を適用したところ、26 種の PFCs が検出され、その内、7 種類が PFHxS の前駆体であることが示された。現在はさらに汚染が深刻な嘉手納基地内の井戸水を対象に、本手順を適用し、PFCs に変化する可能性のある前駆体の絞り込みを行っているところである。

<行政が活用することが見込まれる成果>

2019 年 6 月にストックホルム条約付属書 A で規制される PFOA とその類縁化合物類の環境中での存在実態を探索する際に、生物処理におけるアルコール体の気相への移行データと、本サブテーマで開発した未知の PFCs 前駆体の探索手順などが貢献することができると考えている。

6. 国際共同研究等の状況

本研究成果などを踏まえて、オーストラリア研究会議 (Australian Research Council) の研究助成 Remediation Research Program にオーストラリアの Charles Sturt University と共同で、Integrated in-situ remediation of PFAS contaminated soil and groundwater のテーマで申請することとなり、2019 年 2 月に応募した。採否の決定は 2019 年 7 月頃であり、採択された場合は、9 月から 3 年間の国際共同研究となる予定である。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文 (査読あり)>

- 7) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂, 清水尚登, 齋藤憲光: 土木学会論文集 G (環境), 72, 7, III_87-III_94 (2016)
「化粧品中のペルフルオロ化合物類生成ポテンシャルの把握と前駆体の探索」
- 8) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂: 土木学会論文集 G (環境), 73, 7, III_149-III_156 (2017)
「化粧品中のポリフルオロアルキルリン酸エステル類の好気条件下における生分解生成物の挙動」
- 9) 仲田雅俊, 鈴木裕識, 田中周平, 雪岡聖, 北尾亮太, 藤井滋穂: 土木学会論文集 G (環境), 73, 7, p.III_9-III_16 (2017)
「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類の存在実態」
- 10) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, Zeng Chenghui, 北尾亮太, 仲田雅俊, 藤井滋穂: 水環境学会誌, 41, 2, 27-34 (2018) 「化粧品由来のポリフルオロアルキルリン酸エステル類の下水処理場における挙動および流入負荷量の推定」

<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) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, Zeng Chenghui, 藤井滋穂: 第 19 回日本水環境学会シンポジウム (2016)
「化粧品におけるリン酸系有機フッ素化合物類と分解生成物の存在量の調査」
- 2) 田中周平, 北尾亮太, 鈴木裕識, 雪岡聖, 仲田雅俊, 藤井滋穂, 伊佐智明, 平良知之, 福原次朗, 與古田亨: 第 51 回日本水環境学会年会 (2017)
「沖縄県比謝川のペルフルオロ化合物類汚染の現況と前駆体からの生成過程の検証」
- 3) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂, 清水尚登, 齋藤憲光: 第 51 回日本水環境学会年会 (2017)
「化粧品中のポリフルオロアルキルリン酸エステル類の好気条件下における生分解生成物」
- 4) 北尾亮太, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂, 雪岡聖, 與古田亨: 日本水環境学会年会 (2017)
「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」
- 5) 仲田雅俊, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂, 雪岡聖, 北尾亮太, 曾程輝: 日本水環境学会年会 (2017)

「琵琶湖・淀川流域における全有機フッ素および構成フッ素化合物類の濃度分布」

- 6) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, Zeng Chenghui, 北尾亮太, 仲田雅俊, 藤井滋穂: 第 20 回日本水環境学会シンポジウム (2017)
「化粧品由来のポリフルオロアルキルリン酸エステル類の下水処理場における挙動」
- 7) S. YUKIOKA, S. TANAKA, Y. SUZUKI and S. FUJII: Water and Environment Technology Conference 2017 (2017)
“Biodegradation Products of Polyfluoroalkyl Phosphate Esters in Cosmetics under Aerobic Condition”
- 8) S. YUKIOKA, S. TANAKA, Y. SUZUKI, S. FUJII, N. SHIMIZU, and N. SAITO: The 26th Joint KAIST-KU-NTU-NUS Symposium on Environmental Engineering (2017)
“Biodegradation Test of Polyfluoroalkyl Phosphate Esters in Cosmetics under Aerobic Condition”
- 9) S. YUKIOKA, S. TANKA, Y. SUZUKI, C. ZENG, R. KITAO M. NAKADA AND S. FUJII: Dioxin 2017 (2017)
“Survey on Occurrences of Polyfluoroalkyl Phosphate Esters (PAPs) in Cosmetics and Wastewater Treatment Plants”
- 10) S. Yukioka, S. TANAKA, Y. SUZUKI, S. FUJII, S. ECHIGO, AND A. HAYASHI: Dioxin 2018 (2018)
“Suggestion on a Procedure to Identify Non-Targeted Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) based on Fragmentation Flagging by Liquid Chromatography-Ion Mobility-Quadrupole-Time of Flight Mass Spectrometry (LC/IM-QTOF)”
- 11) S. YUKIOKA, S. TANAKA, Y. SUZUKI, R. KITAO, M. NAKADA, AND S. FUJII: Japan-YWP 国際シンポジウム Water-Wise Innovation Challenge! ~Mission for Phnom Penh Cambodia~ (2018) “Behavior of Polyfluoroalkyl Phosphate Esters and Their Degradation Products from Cosmetics in Wastewater Treatment Plants”
- 12) 雪岡聖, 田中周平, 鈴木裕識, 藤井滋穂, 林明生, 越後信哉: 第 52 回日本水環境学会年会 (2018)
「基盤構造をフィンガープリントとして活用した未知のペルおよびポリフルオロアルキル物質 (PFASs) の構造推定法の検討」
- 13) 松川桜子, 田中周平, 雪岡聖, 北尾亮太, 仲田雅俊, 鈴木裕識, 藤井滋穂: 第 52 回日本水環境学会年会 (2018)
「沖縄県の水道水源とその浄水場におけるペルフルオロ化合物類および前駆体汚染の現況」
- 14) 雪岡聖, 田中周平, 藤井滋穂, 鈴木裕識, 越後信哉: 日本水環境学会シンポジウム(2018)
「ペルおよびポリフルオロアルキル物質(PFASs)の Fragmentation flagging に基づいたノンターゲット分析手順の提案」
- 15) 雪岡聖, 田中周平, 藤井滋穂, 鈴木裕識, 越後信哉: 第 53 回日本水環境学会年会(2019)
「未知のペルおよびポリフルオロアルキル物質(PFASs)の分子構造推定を目指した断片イオンのデータベースの設計」

(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) 第 25 回環境化学討論会「ペルフルオロ化合物類の前駆体の環境中への拡散と生成ポテンシャルによる評価」(主催: 一般社団法人日本環境化学会, 2016 年 6 月 10 日, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター, 約 100 名) にて講演

- 2) 環境ホルモン学会第31回講演会「マイクロプラスチックに含まれる化学物質」, (主催: 日本内分泌攪乱化学物質学会, 2017年6月16日, 東京大学本郷キャンパス, 約50名) にて講演
- 3) 愛媛大学 第24回 Lamer 特別講演会「琵琶湖・大阪湾におけるマイクロプラスチック汚染の現況とペルフルオロ化合物類との関係」, (主催: 愛媛大学沿岸環境科学研究センター, 2018年10月30日, 愛媛大学理学部総合研究棟I, 約40名) にて講演
- 4) 国立保健医療科学院平成30年度水道工学研修「水環境汚染・管理の動向～微量化学物質やマイクロプラスチック～」, (主催: 国立保健医療科学院, 2018年11月6日, 国立保健医療科学院, 約50名) にて講演

(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

<受賞>

- 1) Best Student Oral Presentation Award, Joint KAIST-KU-NTU-NUS, 2017年07月06日, 雪岡聖
- 2) WET Excellent Presentation Award, Water and Environment Technology Conference, 2017年07月23日, 雪岡聖
- 3) Excellent poster presentation Award, Japan National Young Water Professional, 2018年01月28日, 雪岡聖
- 4) 博士研究奨励賞 (オルガノ賞), 日本水環境学会, 2018年09月06日, 雪岡聖

8. 引用文献

- 1) C. LAU, J.L. BUTENHOFF, and J.M. ROGERS: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 198, 231–241 (2004)
“The developmental toxicity of perfluoroalkyl acids and their derivatives”
- 2) 環境省 HP: (2011)
「化学物質の環境リスク評価 第9巻」 <http://www.env.go.jp/chemi/report/h23-01/index.html>
- 3) C. LIU, X. ZHANG, H. CHANG, P. JONES, S. WISEMAN, J. NAILE and B. ZHOU: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 247, 3, 222-228 (2010)
“Effects of fluorotelomer alcohol 8: 2 FTOH on steroidogenesis in H295R cells: targeting the cAMP signalling cascade”
- 4) M. MICHELLE, D. PHILLIPS, M.J.A. DINGLASAN-PANLILIO, S.A. MABURY, K.R. SOLOMON and P.K. SIBLEY: *Environ. Sci. Technol.*, 41, 20, 7159-7163 (2007)
“Fluorotelomer acids are more toxic than perfluorinated acids”
- 5) A.A. RAND, J.P. ROONEY, C.M. BUTT, J.N. MEYER and S.A. MABURY: *Chem. Res. Toxicol.*, 27, 1, 42-50 (2013).
“Cellular toxicity associated with exposure to perfluorinated carboxylates (PFCAs) and their metabolic precursors”
- 6) 田中周平, 藤井滋穂, Nguyen Pham Hong LIEN, 野添宗裕, Chinagarn KUNACHEVA, 木村功二, Binaya SHIVAKOTI: *水環境学会誌*, 31, 11, 665-670 (2008)
「世界 10 カ国 21 都市の水環境における PFOS・PFOA 汚染の現況」
- 7) (有)久光工房:
化粧品技術者向け技術情報提供サイト「Cosmetic.info.jp」 <https://www.cosmetic-info.jp/>
- 8) K.A. BARZEN-HANSON, S.C. ROBERTS, S. CHOYKE, K. OETJEN, A. MCALEES, N. RIDDELL, R. MCCRINDLE, P.L. FERGUSON, C.P. HIGGINS and J.A. FIELD: *Environ. Sci. Technol.*, 51, 4, 2047-2057 (2017)
“Discovery of 40 Classes of Per-and Polyfluoroalkyl Substances in Historical Aqueous Film-Forming Foams (AFFFs) and AFFF-Impacted Groundwater”
- 9) A. ROTANDER, A. KÄRRMAN, L.M.L. TOMS, M. KAY, J.F. MUELLER and M.J. GÓMEZ RAMOS: *Environ. Sci. Technol.*, 49, 4, 2434-2442 (2015)
“Novel fluorinated surfactants tentatively identified in firefighters using liquid chromatography quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and a case-control approach”
- 10) C. BADUEL, J.F. MUELLER, A. ROTANDER, J. CORFIELD and M.J. GOMEZ-RAMOS: *Chemosphere*, 185, 1030-1038 (2017)
“Discovery of novel per-and polyfluoroalkyl substances (PFASs) at a fire fighting training ground and preliminary investigation of their fate and mobility”
- 11) S. NEWTON, R. MCMAHEN, J.A. STOECKEL, M. CHISLOCK, A. LINDSTROM and M. STRYNAR: *Environ. Sci. Technol.*, 51, 3, 1544-1552 (2017)
“Novel polyfluorinated compounds identified using high resolution mass spectrometry downstream of manufacturing facilities near Decatur, Alabama”
- 12) J.R. LANG, B.M. ALLRED, G.F. PEASLEE, J.A. FIELD and M.A. BARLAZ: *Environ. Sci. Technol.*, 50, 10, 5024-5032 (2016)
“Release of per-and polyfluoroalkyl substances (PFASs) from carpet and clothing in model anaerobic landfill reactors”

- 13) H. LEE, J. D'EON AND S.A. MABURY: Environ. Sci. Technol., 44, 9, 3305-3310 (2010)
“Biodegradation of polyfluoroalkyl phosphates as a source of perfluorinated acids to the environment”
- 14) 鈴木裕識, 田中周平, 藤井滋穂, C. Kunacheva: 環境工学研究論文集, 67, 7, III_257-III_265 (2011)
「下水試料中に含まれる懸濁態ペルフルオロ化合物類の簡便性・再現性の高い分析方法の提案」
- 15) E.F. HOUTZ: University of California, Berkeley (2013)
“Oxidative measurement of perfluoro-alkyl acid precursors: Implications for urban runoff management and remediation of AFFF-contaminated ground-water and soil”
- 16) N. Tseng, N. Wang, B. Szostek and S. Mahendra: Environ. Sci. Technol., 48, 7, 4012-4020 (2014)
“Biotransformation of 6: 2 fluorotelomer alcohol (6: 2 FTOH) by a wood-rotting fungus”

Ⅱ－３ 河川環境における人為由来物質からの有害物質生成過程の探索と体系化

〔要旨〕

本サブテーマにより、*N*-ニトロソアミン類とアルデヒド類の環境中存在実態と、その日間および季節変動が明らかとなった。また、下水処理場での処理実態についても明らかとなった。検出頻度および濃度が高かった *N*-nitrosodimethylamine (NDMA) と *N*-nitrosomorpholine (NMOR)、FAH、そしてクロラミンによる NDMA 生性能 (NDMA FP_{CINH}) について、さらに調査を進めた。いずれも調査対象区域では、下水処理場からの寄与が大きいことが明らかとなった。厚生労働省が要検討項目としている NDMA については、環境中では、日中は光分解により明瞭な減衰が確認され、昼夜問わず生分解の寄与が示唆された。太陽光強度の日間変動を加味したモデルにより、流下地点における NDMA 濃度の予測は、実測値と高い相関関係が確認され、モデルの有効性が確認された。しかし、Ranitidine のように、塩素接触や光照射により化学構造が変換しても NDMA FP_{CINH} を残留する成分があることから、NDMA FP_{CINH} により水質を評価することの重要性が確認された。NDMA FP_{CINH} は、下水処理場で 90% 以上除去されることが確認されたが、調査区間最下流部でも残留が確認された。NDMA FP_{CINH}、検出濃度から、dimethylformamide の寄与が高く、特に冬季に河川水中でその寄与率が高まることを確認された。NMOR については、調査対象地域の河川水中で比較的高頻度および高濃度で検出され、地域内の一つの下水処理場からの負荷が特出して高いことが明らかとなった。同下水処理場内での調査結果より、生物処理や塩素処理では濃度の変化はなく、流入水中に高濃度で含まれており、特に夕方以降の短時間に NMOR として流入していることが確認された。NMOR の前駆物質として報告のある morpholine について検討した結果、morpholine が同下水処理場の流入下水と接触することにより NMOR を生成し、その生成機構は、FAH を触媒とした亜硝酸との *N*-ニトロソ化によるものと推察された。現在の化学物質の審査で行われている活性汚泥による生分解試験同様、下水との接触試験や塩素接触試験や、各試験による分解産物の評価も必要だと考えられる。NMOR も光分解性を有しており、夏の日中は濃度低下が著しいが、夜間は保存的であった。このことから、NDMA 同様、夜間や悪天候時に河川を流下する水塊についても監視することが重要である。

１．はじめに

人為由来化学物質の環境・健康リスク評価は、水処理プロセスおよび環境中での変換生成物の重要性が指摘されてはいるものの、一部の例外を除き、原体の評価に限定されてきた。しかしながら、これらの物質の水処理過程・環境中で変換された場合の環境・健康リスクについても十分考慮する必要がある。平成 24 年の利根川水系におけるテトラメチレンヘキサミンが浄水処理過程でホルムアルデヒドを生成した事案は、このような懸念が顕在化した例と考えられる。一方で、この事故への環境政策上の対応は、ホルムアルデヒドに限定されており、様々な有害物質への対応が求められているところである。同様の副生成物として、*N*-ニトロソジメチルアミン (NDMA) が諸外国では ng/L レベルで基準値等が設定されているが、日本では要検討項目として取り上げられているに過ぎない。このような有害物質を生成しうる化学物質は、本来は流通する前に有害物質への変換を把握する必要があるが、現行法令では原体の毒性の有無や生分解性の高低のみの試験しか実施されていない。特に、多種多様な前駆物質が存在すると考えられる *N*-ニトロソアミン類とアルデヒド類については、上・下水処理で用いられる塩素等による酸化処理や、非意図的な下水処理水の再利用が行われている河川流域の流下過程での光照射等による変換も含め、存在実態の把握や管理体系の確立が必要だと考えられる。特定の副生成物に対し ng/L レベルの極低濃度で水道水質基準が設定され、さらに環境基準、排水基準が設定された場合、前駆物質となる化学物質をどの段階で誰が費用を負担し処理・管理するのが将来の問題となる。

2. 研究開発目的

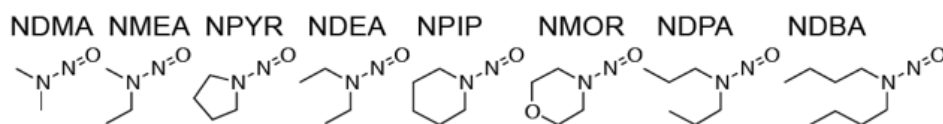
サブテーマ2では、特に *N*-ニトロソアミン類とアルデヒド類を中心に、化学物質の変換過程を考慮した管理体系の構築に資することを目標に、これらの物質と前駆物質（生成能）の

- 1) 河川と下水処理場(STP)内での存在実態把握
- 2) 河川流下過程と下水処理での変換過程の把握
- 3) 河川下流点での残留予測

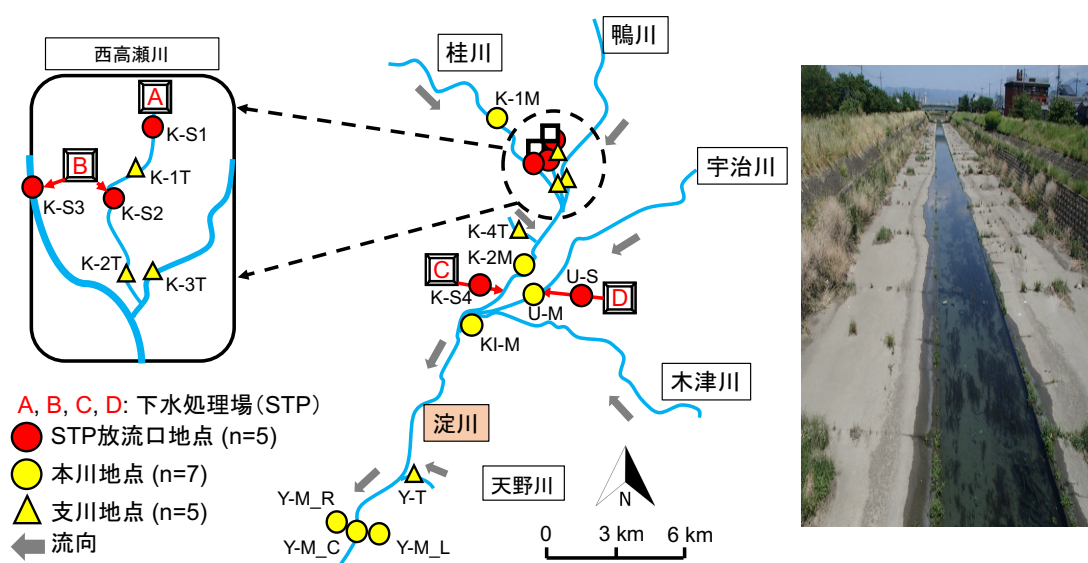
を目的に研究を遂行した。また、変換過程を考慮した管理体系の必要性を示す事例の提示を目的に、特定物質の環境中挙動や対象有害物質の生成について、研究を遂行した。

3. 研究開発方法

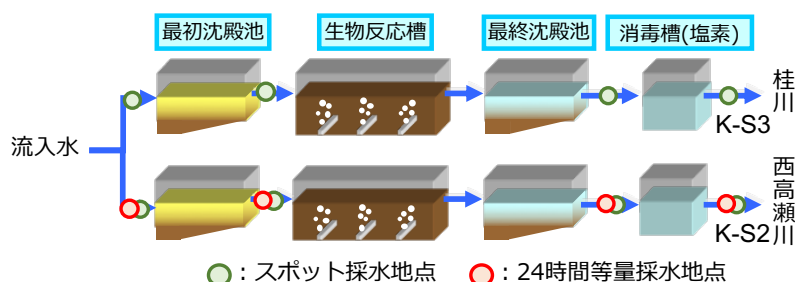
N-ニトロソアミン類（図(3)-1）とアルデヒド類とその生成能を対象に、淀川水系の桂川、木津川、宇治川が合流する地点の上・下約 10 km の区間で調査を行った（図(3)-2）。具体的には、4 か所の STP の 5 つの放流口、河川本流の 7 か所と、その流域での支流の 5 か所で河川表層水、STP 放流水、下水等の採水を行った。また、流下過程における変化を把握するため、河川の一部地点において深夜にも採水を行うとともに、一部区間において流下採水を行った（図(3)-2 写真）。さらに、京都市内のほぼ全ての下水を処理している流域内の 1 つの STP にて、処理工程毎（図(3)-3）の挙動把握調査を複数回行った。STP B には、2 つの処理系列があり、それぞれ別々の流入下水を処理し、別々の放流口（K-S2 と K-S3）に放流している。得られた試料は既報¹⁾に従い *N*-ニトロソアミン類とアルデヒド類の分析と、一部の試料についてはそれらのクロラミンによる生成能試験を行った。検討の過程において、重要な前駆物質もしくは分解産物の存在が示唆されたため、適宜、ガスクロマトグラフ-タンデム質量分析計（GC-MS/MS）もしくは液体クロマトグラフ（LC）-MS/MS にて定量を試みた。また、並行して LC-四重極飛行時間型質量分析計（LC-QToF/MS）にて同定を試みた。



図(3)-1 対象とした *N*-ニトロソアミン類の構造式



図(3)-2 調査地点全体と流下調査を行った西高瀬川の流況（写真）



図(3)-3 STP Bにおける試料採水地点

STP B での観測結果を実証するため、処理場より採取した活性汚泥を用いた生物処理実験を行った。得られた試料は同様に既報¹⁾に従い、*N*-ニトロソアミン類とアルデヒド類の分析と、一部の試料についてはそれらのクロラミンによる生成能試験を行った。

重要な前駆物質の絞り込みは、『特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律』による届出情報(PRTR 情報)を、全国で発生する下水処理水量で割ることにより推定した下水中濃度と、特に *N*-ニトロソアミン類の構造(図(3)-1)を含有する、または類縁の構造より優先順位をつけ、生成能試験に供した(表(3)-1)。生成能は、既報¹⁾に従い評価した。

表(3)-1 PRTR 届出物質の下水および水環境への流出量の予測

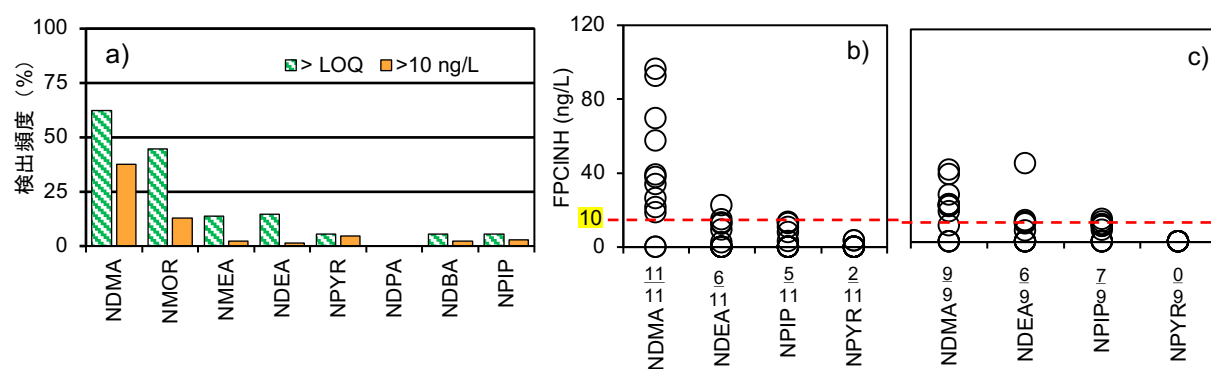
PRTR 番号	化合物名	下水道へ の排出量 [kg/yr]	下水中 推定濃度 [ng/L]	水環境へ の排出量 [kg/yr]
213	<i>N,N</i> -dimethylacetamide	83,700	5,770	150,000
218	Dimethylamine	16	1.1	34,000
232	Dimethylformamide (DMF)	209,000	14,400	120,000
276	Tetraethylenepentamine	853	58.8	12,000
277	Triethylamine	48,800	3,370	45,000
278	Triethylenetetramine	0	0.0	24,000
341	Piperazine	22,200	1528	3,600
389	Hexadecyltrimethylammoniumchloride	33	2.2	26,000
455	Morpholine (MOR)	3,000	207	16,000

(略語を付した成分を本研究において生成能試験に供した)

流下過程における挙動把握調査における観測結果を立証するため、対象物質を純水もしくは河川水等に添加し、太陽光もしくは太陽光と同様の可視光波長範囲を有するランプにより、照射実験を行った。その際、都市の水循環における下水処理場での塩素処理、下水処理水放流後の太陽光照射を模した処理実験も行った。得られた試料は、同様に既報¹⁾に従い対象物質濃度の測定と生成能試験を行った。

4. 結果及び考察

河川および下水処理放流水の *N*-ニトロソアミン類の検出頻度を図(3)-4a に示した。諸外国では NDMA や NMOR (図(3)-1) の規制値が定められているが、その中の比較的低濃度値である 10 ng/L を基準に議論を進めるため、10 ng/L 以上の検出頻度も併記した。また、桂川最下流部 (K-2M) と調査区間最下流部 (Y-M) (図(3)-2a) において観測された *N*-ニトロソアミン類の生成能 (FP_{CINH}) を図(3)-4b, c に示した。以上より、NDMA, NMOR, NDMA FP_{CINH} と、同じく検出頻度および濃度が高かったアルデヒド類のホルムアルデヒド (FAH) (後述) を中心に報告を進める。



図(3)-4 河川表層水および下水処理場放流水中の *N*-ニトロソアミン類の検出頻度 (a) と桂川最下流部 (K-2M, b) と調査区間最下流部 (Y-M, c) における *N*-ニトロソアミン類のクロラミン処理による生成能試験結果 (横軸の分母は試験試料数, 分子は生成が確認された試料数)

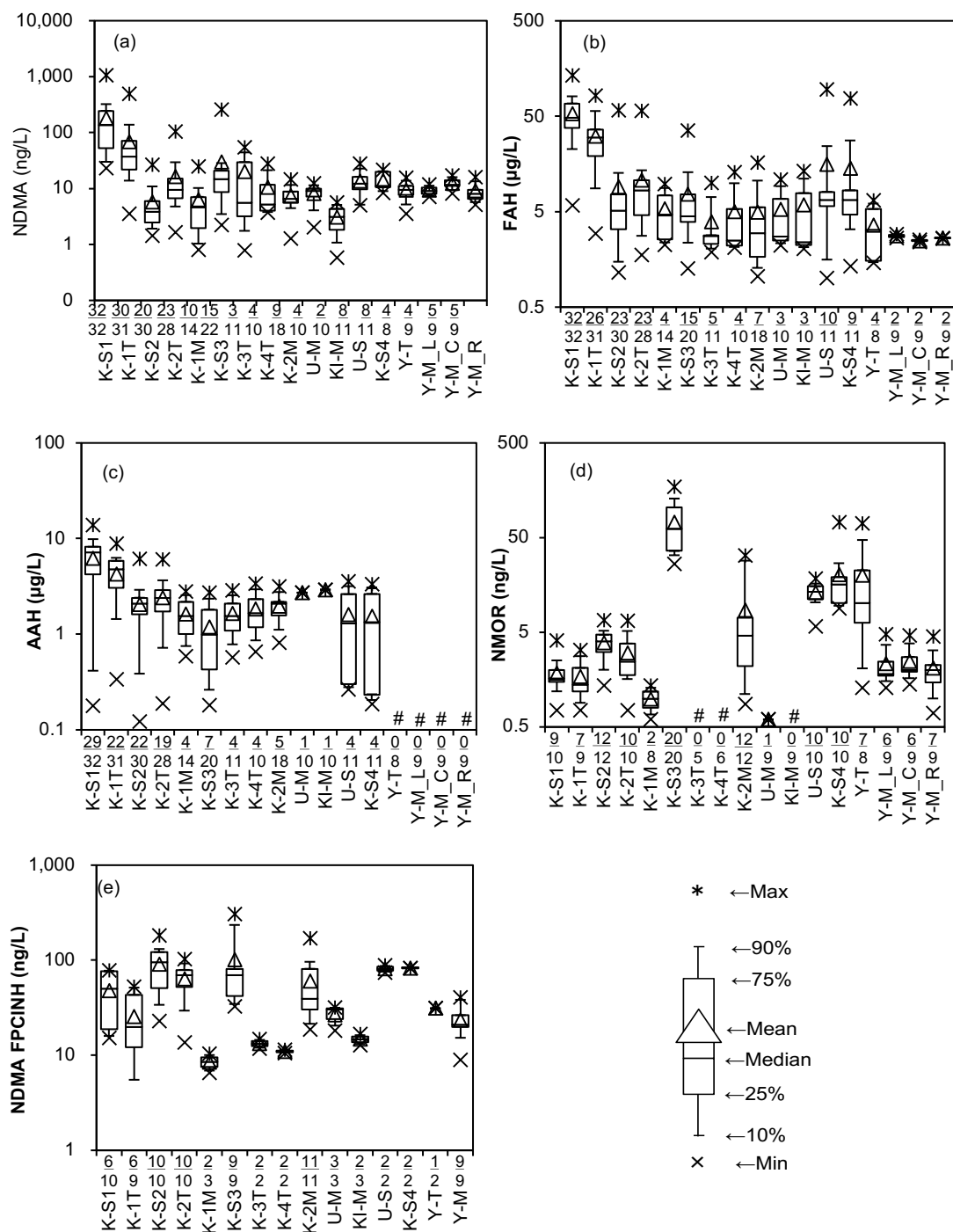
NDMA とアルデヒド類の FAH とアセトアルデヒド (AAH) は、オゾン処理を行っている下水処理場 (K-S1) でもっとも高濃度で検出された (図(3)-5)。全地点において FAH と AAH の濃度には高い相関関係が確認された ($R^2=0.63$)、他の成分については確認されなかった。NMOR については、他の塩素処理を行っている下水処理場 (K-S3) で検出濃度・頻度が高かった。NDMA FP_{CINH} は、上記 2 箇所の下水処理場放流水と、その放流地点の下流点 (K-2M) で比較的高濃度であり、これらの流下・残留が示唆された。以下にて日間および季節変動を考察する。

下水処理水 (図(3)-6 中 STP)、桂川と淀川本川 (図中 Main stream)、その他の支川などの河川水採水地点 (図中 Tributary) における分析結果を、夏の日中 (SD) と夜間 (SN)、冬の日中 (WD) と夜間 (WN) に分け考察を進める。NDMA については、中央値で比べると下水処理水中の濃度が相対的に高く、SD (中央値 24.6 ng/L, 検出頻度 68%), SN (21.7 ng/L, 67%), WD (20.1 ng/L, 88%), WN (11.4 ng/L, 100%) であった (図(3)-6a)。本川では、NDMA は夏季 [SD (7.5 ng/L), SN (7.1 ng/L)] であるのに対し、冬季 [WD (9.5 ng/L), WN (8.1 ng/L)] に高い傾向が確認された。

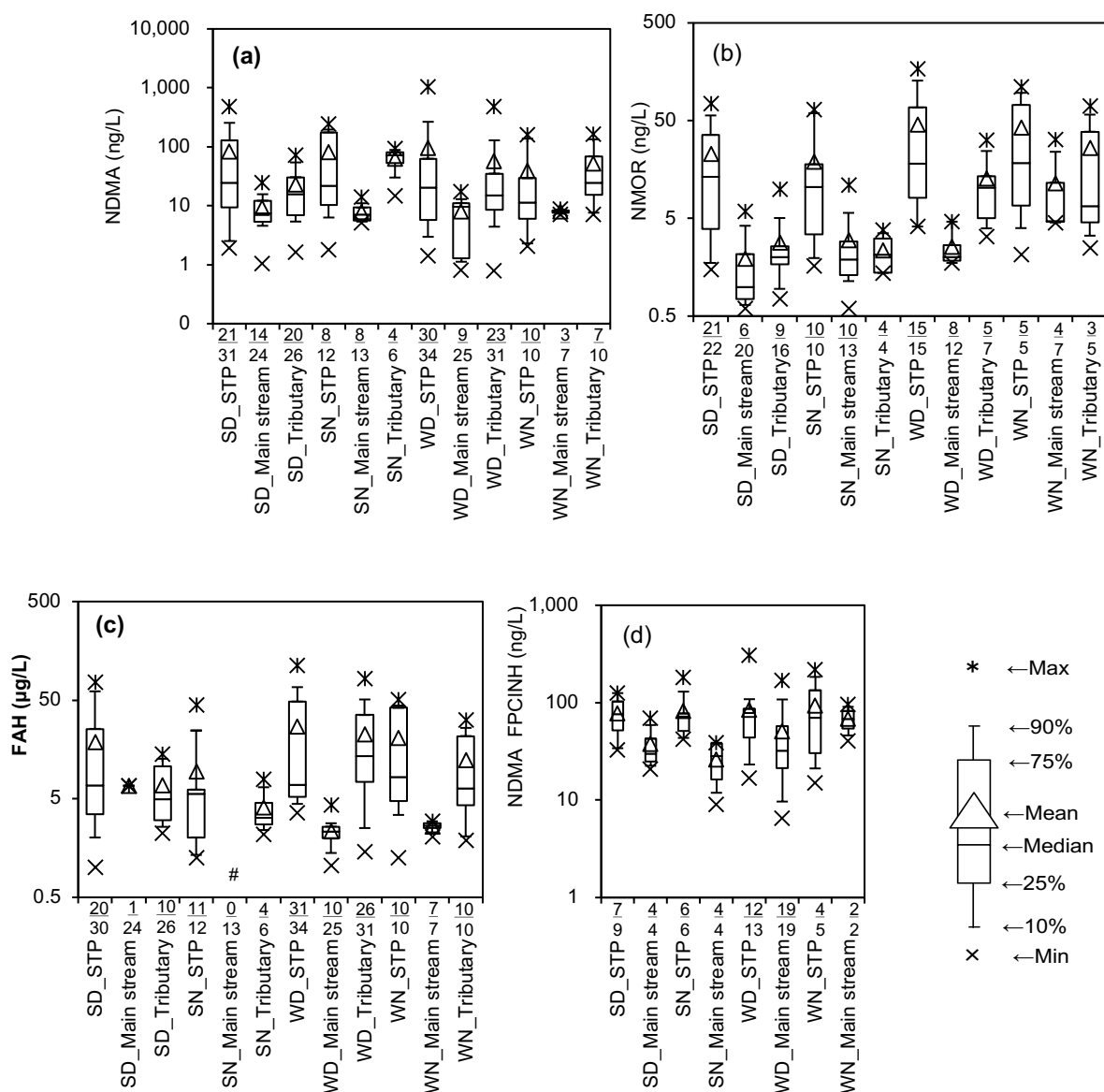
NMOR についても同様に、放流水中の中央値は、夏季 [SD (13.3 ng/L, 95%), SN (10.5 ng/L, 100%)] に比べ、冬季 [WD (18.3 ng/L, 100%), WN (18.4 ng/L, 100%)] で高濃度だった (図(3)-6b)。河川水中 NMOR 濃度は、WN (4.7 ng/L) に、WD (2.0 ng/L), SN (1.9 ng/L), SD (1.0 ng/L) の値より高い濃度が検出され、日間および季節間変動が示唆された。

FAH については、NMOR 同様に放流水中で比較的高濃度であり、かつ冬季に高濃度になる傾向が確認された (図(3)-6c)。NDMA FP_{CINH} については、日・季節間の差異は確認されなかったが、河川水中では SD が高い中央値 (51.2 ng/L) を示し、WD が最も低く (20.8 ng/L)、一方 SN, WN は同程度の中央値 (それぞれ 37.8 ng/L と 40.6 ng/L) であった (図(3)-6d)。

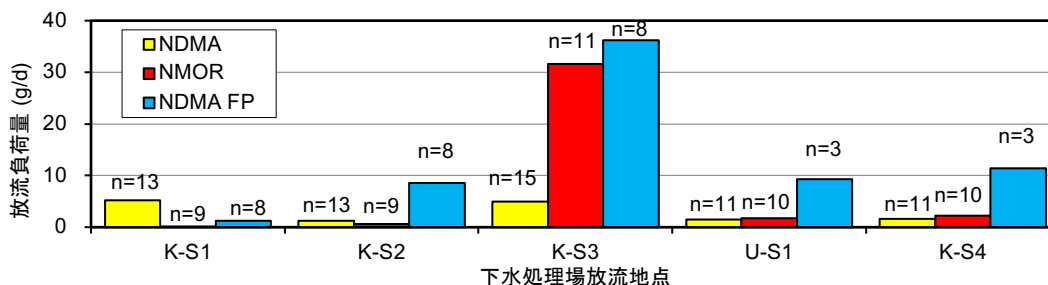
調査日の対象下水処理場の放流量より、NDMA, NMOR, NDMA FP_{CINH} の放流負荷量を算出した (図(3)-7)。その結果、NDMA については K-S1 と K-S3 が比較的負荷量が高く、NMOR と NDMA FP_{CINH} については、K-S3 の負荷量が出して高い値となった。



図(3)-5 河川表層水および下水処理場放流水中の
NDMA (a), FAH (b), AAH (c), NMOR (d)とNDMA FPCINH (e)の検出濃度範囲
(横軸の分母は試験試料数, 分子は生成が確認された試料数)



図(3)-6 下水処理水 (STP), 桂川と淀川本川 (Main stream), その他の支川などの河川水採水地点 (Tributary) における NDMA (a), NMOR (b), FAH (c), NDMA FP_{CINH} (d) の夏の日中 (SD) と夜間 (SN), 冬の日中 (WD) と夜間 (WN) の検出濃度範囲 (横軸の分母は試験試料数, 分子は生成が確認された試料数)



図(3)-7 調査対象下水処理水からの NDMA, NMOR, NDMA FP_{CINH} の放流負荷量

NDMA, NMOR, NDMA FP_{CINH} の放流負荷量が高く, K-S2 と K-S3 の 2 つの放流口を持つ STPB において, 前述 (図(3)-3) の処理工程毎の対象物質の存在実態調査を行った。前述の通り, 2 つの放流口のうち, 片方 (K-S3) において NDMA, NMOR, NDMA FP_{CINH} の放流負荷量が高かったことから, 他方の調査結果は省略する。まず, 消毒槽の前後における NDMA, NMOR, NDMA FP_{CINH} の経時濃度変化を図(3)-8 に示す。いずれ

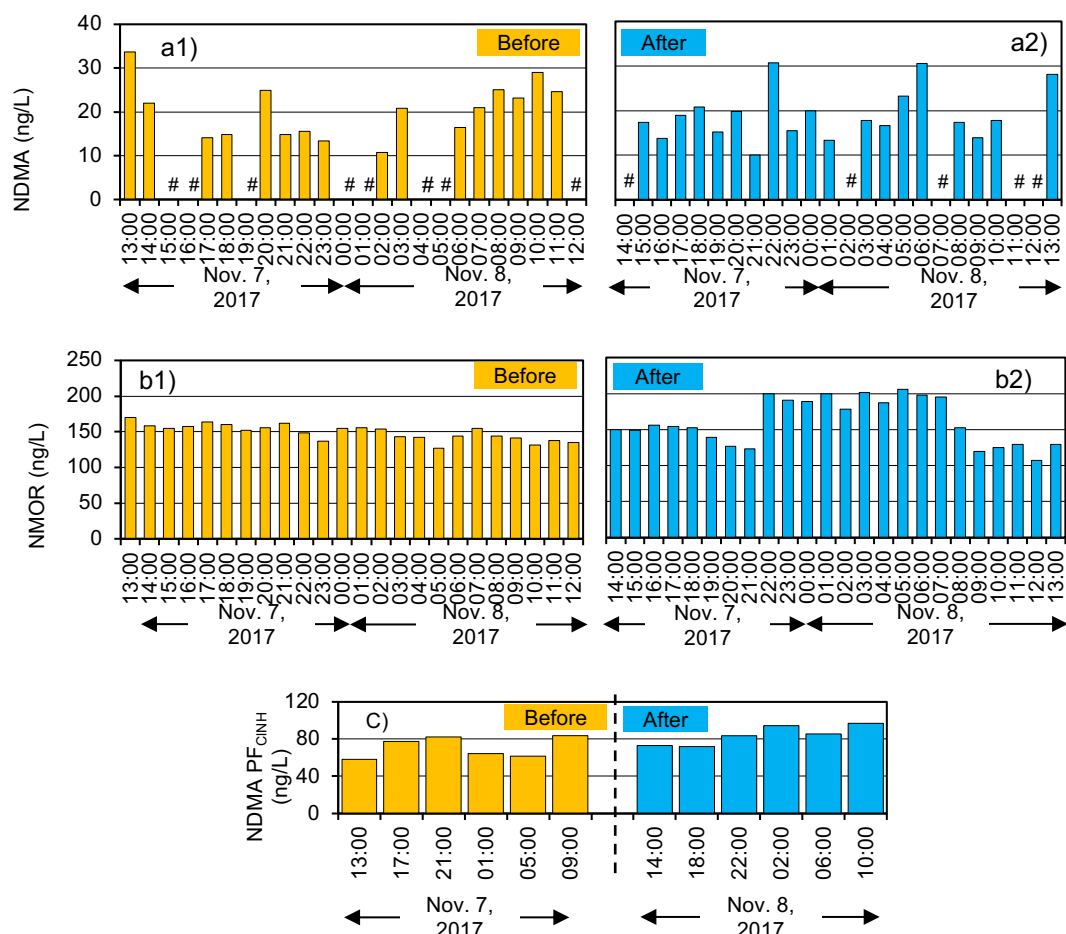
も消毒槽にて明瞭な濃度増加は確認されなかった。NDMA FP_{CINH} が高濃度で検出されているにもかかわらず、実際の消毒槽において NDMA の濃度増加が確認されなかったのは、前者が過剰量のクロラミン処理を行い、最大生成量を評価しているのに対し、実際の消毒槽では生成能試験の 1/100 程度の塩素量しか添加しておらず、NDMA の生成には至らないためだと考えられる。ここで、NDMA と NMOR は消毒副生成物という観点から調査対象としたが、いずれも消毒前の試料において、消毒後の試料とほぼ同等の濃度が確認された。このことは、NDMA と NMOR として STP B へ流入しているか、STP B の他の工程で生成していることを示唆しているものと考えられることから、他の工程についても調査を進めた。生物反応槽、つまり生物処理における濃度変化を調べた。NDMA、NDMA FP_{CINH} の経時濃度変化を図(3)-9 に示す。NMOR については、生物反応槽の前後における濃度の変化は確認されなかったことから、省略する。NDMA については、生物反応槽の前後において、検出頻度と濃度の増加が確認された。STP B から採取した活性汚泥へ、*N*-ニトロソアミン類標準溶液を添加した実験（8 時間）では、NDMA と NMOR の生成や減少が確認されなかった（非表示）ことから、最終沈殿池からの汚泥返送過程における NDMA の生成と負荷が示唆された。返送汚泥をガラス繊維ろ紙（孔径 1.0 μm ）でろ過し、固液分離した後にクロラミンによる生成能試験を行った結果、高濃度の NDMA FP_{CINH} が汚泥相より検出され（図(3)-10）、汚泥の返送が生物処理水、塩素消毒後の放流水中の NDMA の残留に寄与しているものと推察された。

NMOR については、消毒槽での濃度増加や生物反応槽での濃度の増減が確認されず、活性汚泥を用いた生分解試験においても濃度の増減が確認されなかった。そのため、流入水中濃度の経時変化を、調査した。その結果、流入水中から最高 340 ng/L の NMOR が検出された。短時間に高濃度になる流入傾向が確認され、傾向を明瞭にするため、検出濃度と流入量の積である流入負荷量を算出した（図(3)-11）。流入負荷量変動から分かるように、2 回の調査日ともに夕方から深夜にかけて負荷量が高くなることが確認された。同様の負荷量変動が FAH についても確認され（非表示）たが、その負荷量の最大値は 2 回の調査でそれぞれ 5 kg/h と 1 kg/h であった。NMOR そのものの工業利用はないことから、NMOR の前駆物質がその発生源で変換して NMOR となったか、下水処理場への流入前までに変換した可能性が考えられる。NMOR と類似の構造を有する morpholine（MOR）についての検討結果について、NDMA の前駆物質に関する検討結果とともに以降で報告する。

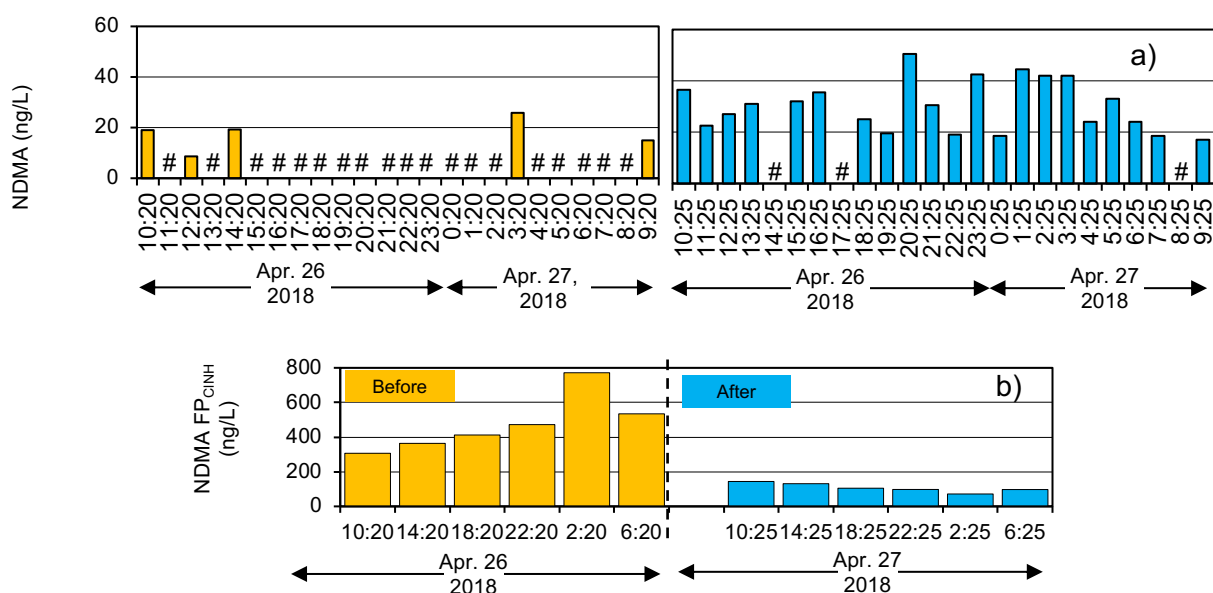
NDMA の前駆物質として、いくつかの工業用化学物質が報告されている。調査地域において検出された NDMA FP_{CINH} の物性を把握するため、市販の吸着剤を用いて濃縮することにより物性の把握を試みた。採取試料の NDMA FP_{CINH} に対し、同じ試料に対する市販のいくつかの吸着剤（シリカゲル、陰イオン交換樹脂、両性樹脂、活性炭等）を用い、吸着画分（retentate）と通過画分（permeate）の合計の NDMA FP_{CINH} より回収率を算出（非表示）し、MCX に決定した。STP B（K-S3 系列）の流入水と放流水を、ガラス繊維ろ紙（孔径 1.0 μm ）によるろ過と未ろ過、陽イオン交換樹脂（MCX）による処理ののち、クロラミンによる NDMA の生成能試験に供した。その結果、ろ過により除去される NDMA FP_{CINH} は 2 割未満であり、MCX により捕捉される割合は 7 割以上であった（図(3)-12）。この事より、前駆物質は、水溶性が高く、陽イオン性であることが示唆された。

この結果に加え、これまでに生成能に関する報告が少ないこと、一方で国内での使用量と下水道や環境への排出量が多い（表(3)-1）ことを考慮し、dimethylformamide（DMF）を対象に研究を進めた。NDMA の前駆物質については、既報では地域特異的な特定の化学物質からの寄与を指摘していることが多いが、NDMA の前駆物質が多岐に渡ることを考慮すると、様々な化学物質から NDMA の生成に繋がる反応における最終物質（NDMA となる直前の化学物質）を監視していくことが重要であるという観点のもとでもある。既報¹⁾に従い DMF のクロラミンによる生成能を測定したところ、0.92%（つまり 1 mol の DMF から 0.0092 mol の NDMA

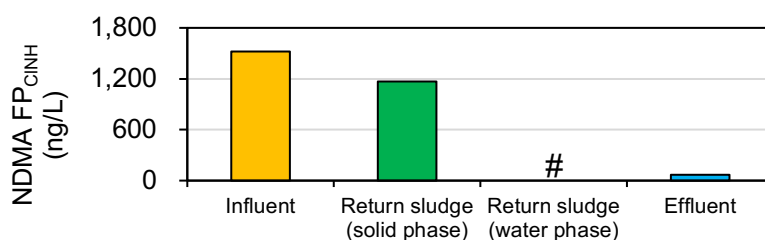
を生成)であった。下水処理過程における DMF の挙動把握を目的に、DMF の LC-MS/MS による分析法を確立し、STPB (K-S3 系列) における調査を行った。その結果、DMF は、NMOR と同様に夕方と比較的高濃度で下水処理場に流入 (非表示) するが、生物処理で効果的に除去されることが確認された (図(3)-13c, d)。



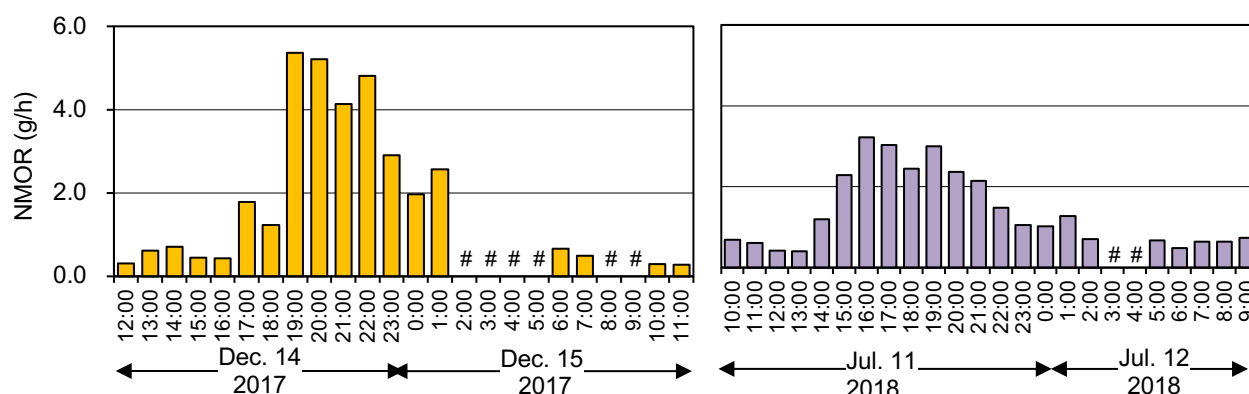
図(3)-8 STPB (K-S3 系列) の消毒槽の流入水と放流水中の NDMA (a), NMOR (b), NDMA FP_{CINH} (c) の濃度変化
NDMA, NMOR については 1 時間毎の採水結果, NDMA FP_{CINH} については 4 時間分の混合試料の結果
図中の # は定量下限値以下を示す。



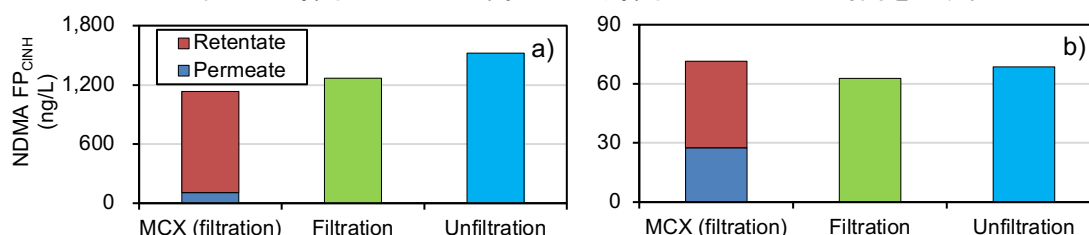
図(3)-9 STPB (K-S3 系列) の生物反応槽における NDMA (a) と NDMA FP_{CINH} (b) の流入水と放流水中濃度変化
NDMA については 1 時間毎の採水結果, NDMA FP_{CINH} については 4 時間分の混合試料の結果
図中の # は定量下限値以下を示す。



図(3)-10 STP B (K-S3 系列) における NDMA FP_{CINH} の流入水、返送汚泥（液相および汚泥相）、放流水（K-S3）中の存在濃度
図中の#は定量下限値以下を示す。



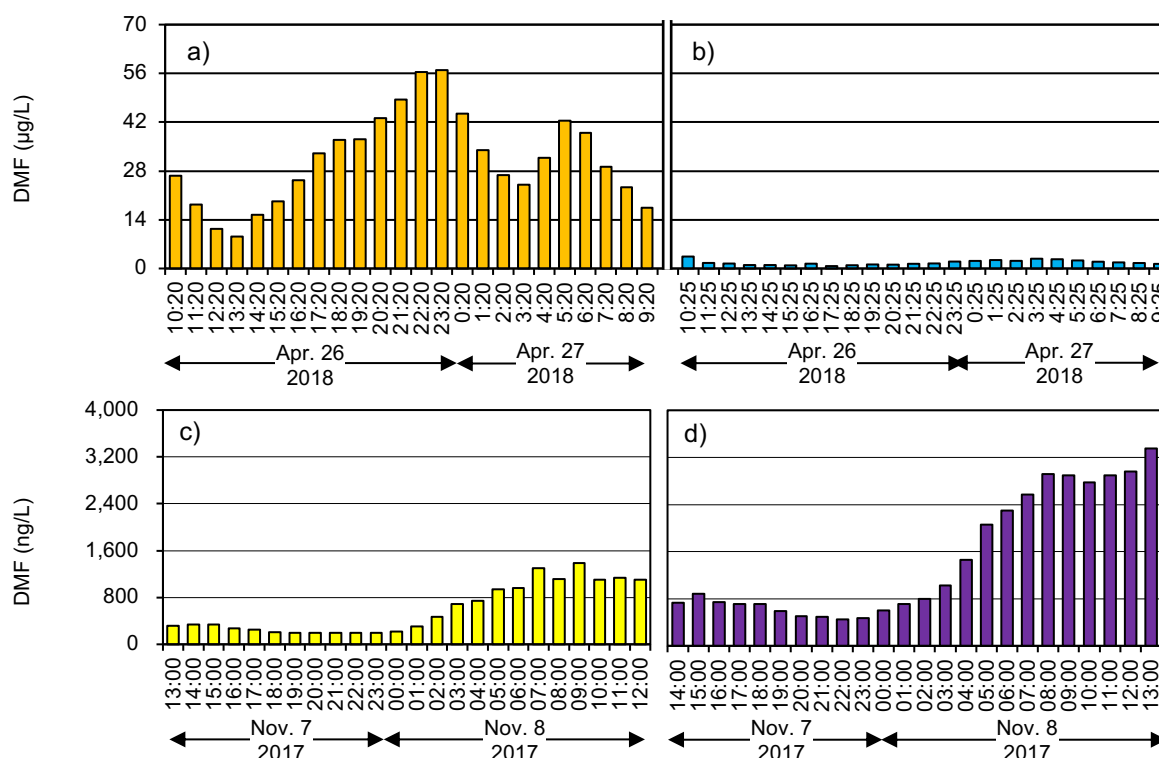
図(3)-11 STP B (K-S3 系列) における NMOR の流入負荷の経時変化
図中の#は採水チューブの閉塞により採水できなかった時間を示す。



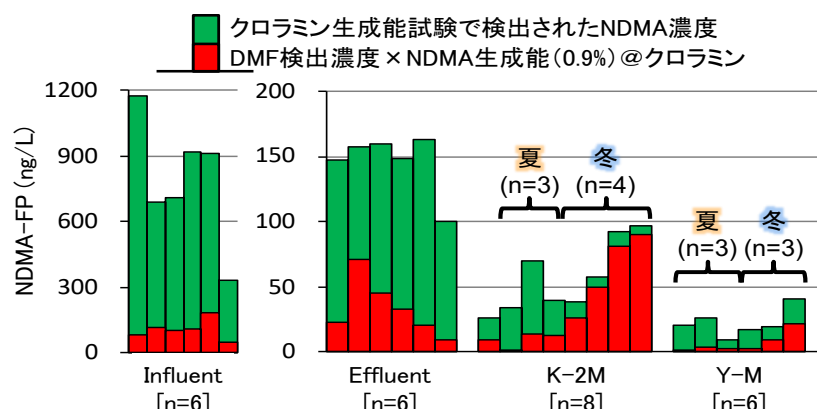
図(3)-12 STP B (K-S3 系列) の流入水 (a) と放流水 (b) の MCX 吸着画分 (retentate) と通過画分 (Permeate), ろ液, 原液中の NDMA FP_{CINH}

高濃度の DMF が環境中に排出されていることが示唆されたため、河川においても DMF の存在実態調査を行うとともに、河川水を用いた光分解試験と生分解試験をアメリカ環境保護局のガイドライン (OPPTS 835.2210, OPPTS 835.3170) ^{2,3)} に従い実施した。その結果、光分解速度定数は $0.002 \sim 0.003 \text{ h}^{-1}$ であり、生分解による半減期は 250～310 時間であり、水環境中で安定的だと推定された。事実、桂川最下流部 (K-2M) と調査区間最下流部 (枚方, Y-M) でも数 $\mu\text{g/L}$ の濃度レベルで検出された (非表示)。

前述の通り、DMF の NDMA FP_{CINH} は 1% 未満と低いが、使用量・環境への排出量が多く、下水処理過程で生成が示唆され、環境中で安定であることから、下水、下水処理水、河川水で検出された NDMA FP_{CINH} に対する DMF の寄与を算出した (図(3)-14)。算出方法は、DMF の検出濃度、DMF の NDMA FP_{CINH} (0.92%) を乗じて算出した。下水中では、DMF の寄与率は低く、NDMA FP_{CINH} は低下するが、放流水、河川水と下流に向け寄与率の上昇が確認された。特に、STPB の下流に位置する桂川最下流部 (K-2M) では、冬季にその寄与率が上昇することが確認された。また、さらに下流に位置する枚方大橋 (Y-M) においても冬季に寄与率が高まる傾向が確認された。DMF の浄水工程における挙動や、NDMA FP については不明であるが、DMF が各産業において原料として多量に使用されていること、環境中濃度が高く、安定的であることから、DMF の残留に注視していくことが必要だと考えられる。



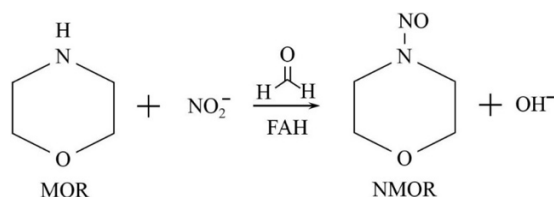
図(3)-13 STP B (K-S3 系列) の生物反応槽の流入水 (a) と放流水 (b), 消毒槽の流入水 (c) と放流水 (d) 中の DMF 濃度の経時変化



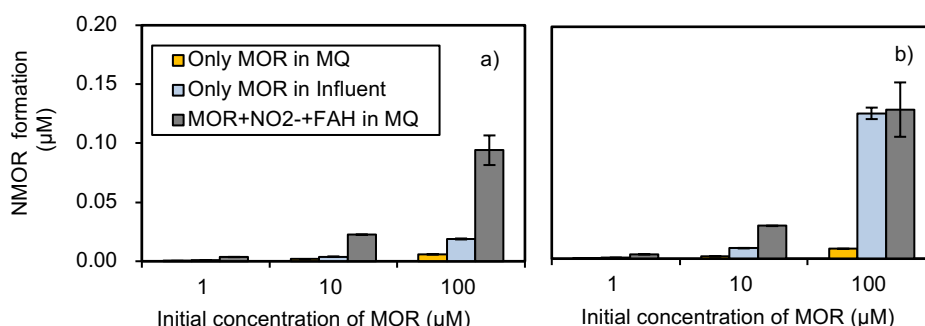
図(3)-14 下水, 下水処理放流水, 桂川最下流部 (K-2M) および調査区間最下流部 (枚方, Y-M) の表層水中の NDMA FP_{GINH} に対する DMF の寄与

NMOR については、下水中にて高濃度で存在していることが確認された。前述の通り NMOR そのものの工業利用は無いことを考慮すると、NMOR 前駆物質を使用している施設における NMOR の生成か、同施設から下水処理場までの間に NMOR が生成していることが予想される。NMOR のクロラミンによる前駆物質として morpholine (MOR) が知られているが、液相⁴⁾と気相⁵⁾における FAH を触媒とした亜硝酸との *N*-ニトロソ化反応による MOR から NMOR の生成 (図(3)-15) も報告されている。前述の通り、STPB (K-S3 系列) では、流入水中に高濃度の FAH の存在が確認されている。また、STPB の管轄機関より、流入水中の亜硝酸濃度については、最大 0.1 mg-N/L と報告されている。以上より、MOR の LC-MS/MS による分析法の確立と、家庭排水と工業廃水の混合液である下水と、MOR の接触による NMOR の生成について検討を進めた。上記の *N*-ニトロソ化反応について、反応温度と pH, 亜硝酸と FAH の初期濃度の影響を確認 (非表示) した後、実条件に近い条件において、MOR の濃度と、反応時間を変え、MOR から NMOR への生成試験を行った。反応時間は、STP B の処理区内において、最遠の地点から下水処理場への推定滞留時間 (6 時間 = 0.25 日) と

1 日で実施した。MOR は、純水中でも NMOR の生成が確認されたが、下水との接触により更に高濃度の NMOR 生成が確認され、接触時間が 1 日では、純水に人工的に亜硝酸と FAH を添加した試験区と同等の値を示した (図(3)-16)。このことより、MOR は下水に混入することにより、NMOR を生成する可能性が確認された。

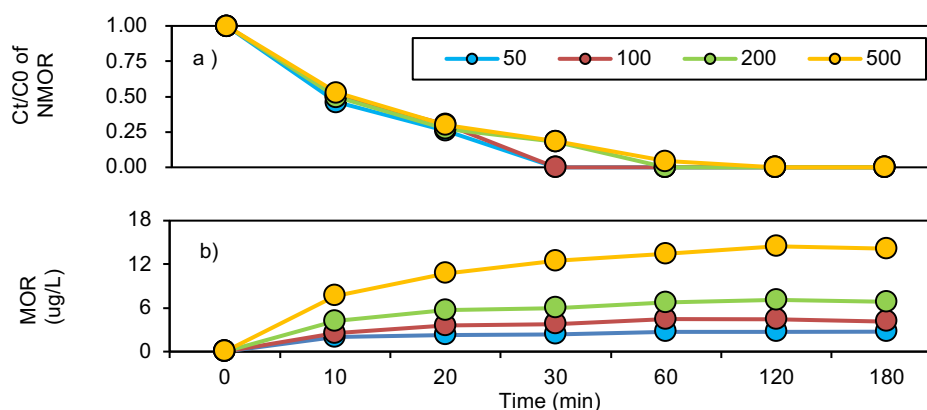


図(3)-15 FAH を触媒とした亜硝酸との *N*-ニトロソ化反応による MOR から NMOR の生成反応 2)



図(3)-16 MOR から NMOR への純水中、STP B (K-S3 系列) 流入中、亜硝酸および FAH 共存化での生成挙動
反応時間 : 0.25 日 (a) と 1 日 (b), pH 7.0, 水温 25 °C, 亜硝酸濃度 100 μM, FAH 濃度 100 μM
エラーバーは 3 連の実験の標準偏差を示す。

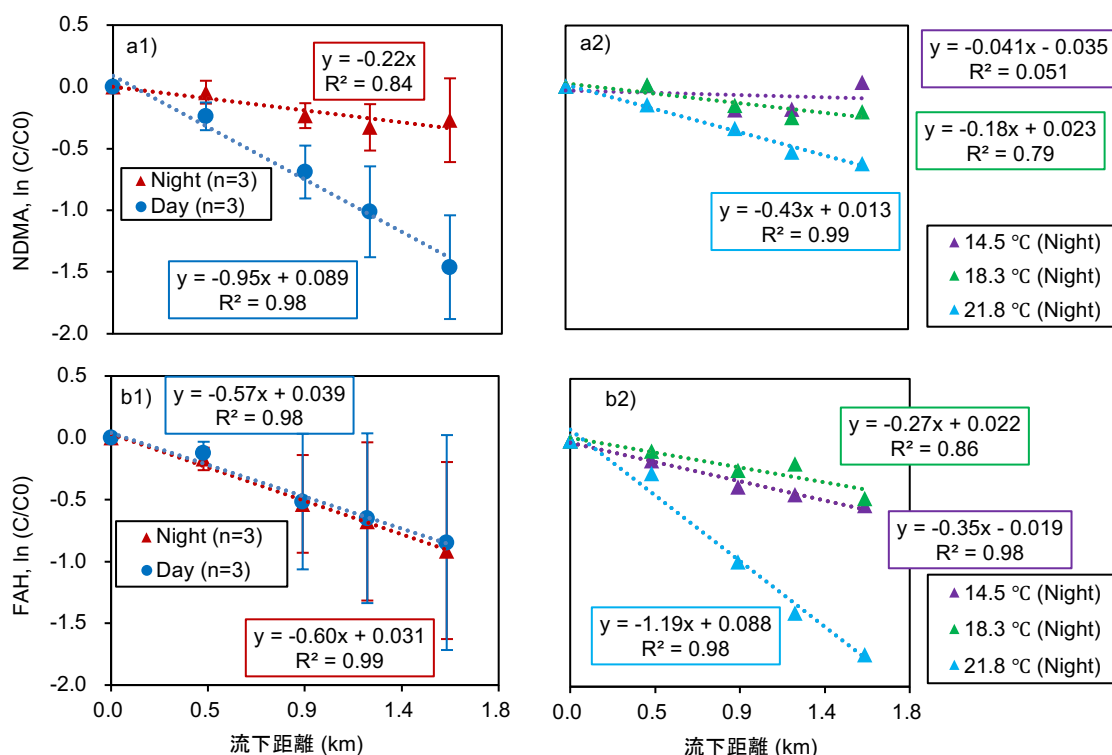
NMOR は、調査対象流域において比較的高濃度で検出されている (図(3)-5)。そこで、アメリカ環境保護局のガイドライン (OPPTS 835.2210, OPPTS 835.3170) に従い、生分解および光分解試験を実施した。その結果、生分解については確認されず (非表示)、光分解が確認されたが、光分解に伴い MOR を生成 (4~7%) することが確認された (図(3)-17)。生成した MOR については、光分解を示さず、安定的であった。



図(3)-17 異なる NMOR 初期濃度条件 (50, 100, 200, 500 μg/L) の光分解実験における NMOR の減衰 (a) と MOR の生成挙動 (b)

以下では、下水処理水の放流口の下流に位置する地点における対象物質の濃度予測の検討結果を報告する。西高瀬川は、2つの下水処理場が水源となっており、流路の大部分が人工河川であり、晴天時には他の流入が無い地点である (図(3)-2)。濃度予測モデルの構築に向け、この西高瀬川にて流下採水を行った。流下距離が 1.6 km (流下時間は約 2 時間) と短いですが、NDMA と FAH について流下に伴う濃度の減衰が確認され、特に NDMA については、日中の減衰が顕著であり (図(3)-18a)、バッチ試験で行なった光分解実験結果(非表示)と

整合していた。FAH については、日間変動は小さく、光分解ではなく生分解の寄与が大きいこと示唆された (図(3)-18a)。



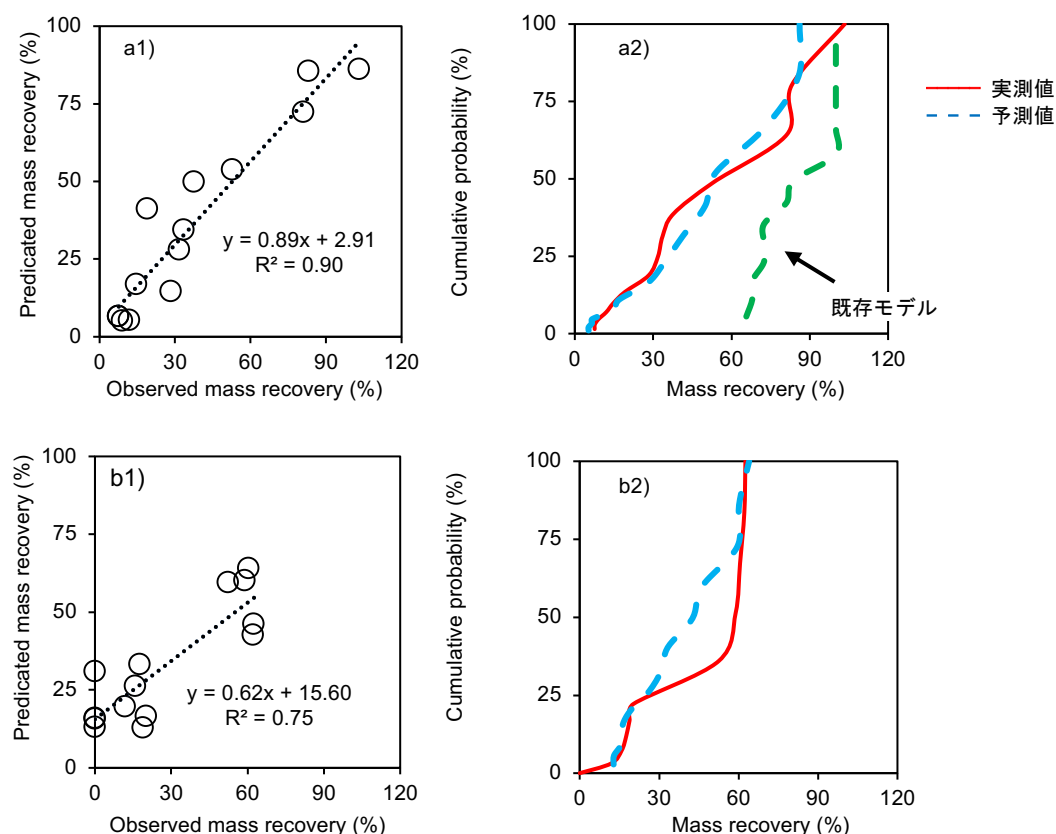
図(3)-18 西高瀬川上流部における NDMA (a) と FAH (b) の日中と夜間の流下に伴う濃度減衰比
左列 (1) の夜間の結果は、右列 (2) の各結果の平均値を示す。

下流地点の濃度予測モデルは、数理モデルではなく、吸着や生分解、光分解等による変化を考慮した確率論モデルに、更に光分解の日変動を加味した光分解モデル⁹⁾へ本研究の対象物質に関するパラメータを代入して構築した。その結果、光分解と生分解の寄与を強く受ける NDMA、生分解の寄与を受ける FAH について、調査区間の上流から下流への到達割合 (流達率) の予測値と実測値 (図(3)-19a1, b1) とそれらの非超過確率 (図(3)-19a2, b2) とともに良好な相関関係が確認された。特に、NDMA については、太陽光強度の日変動を考慮していない既存のモデルでは、実測値との乖離が大きく、本研究で改良したモデルが NDMA の流下点における濃度予測に有効であることが示された。

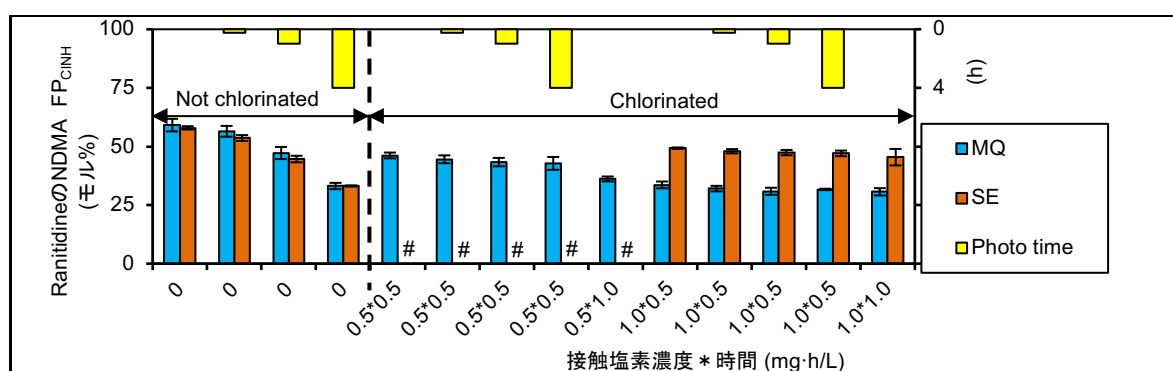
生分解や光分解を受けない化学物質については、各排出源における濃度と受水域における希釈を考慮すれば濃度の予測が理論的には可能である。一方、生成能については、単物質による寄与ではなく前駆物質の混合物によるものである場合、前駆物質により物性が異なることから、生成能そのものの流下地点での存在量の推定は不可能である。このことから、下流地点では生成能試験により受水水質を評価することが必要だと考えられる。また、有害物質を生成する化学物質の挙動だけを監視していても、その物質の変換物質が有害物質の生成能を残留しているかどうかは分からない。その一例を以下に示す。

ヒスタミン H2 受容体拮抗薬として抗アレルギー薬などに使われる ranitidine は、遊離塩素との高い反応性やクロラミンとの反応による高い NDMA FP⁷⁾と、光分解性⁸⁾が知られている。しかし、塩素化 ranitidine や、ranitidine 光分解物、塩素化 ranitidine の光分解産物が NDMA FP を残留しているかは不明である。そこで本研究では、ranitidine の塩素処理と光照射による NDMA FP の変化について実験を行った。その結果、塩素処理によって、純水あるいは下水処理水の ranitidine 残留量はほぼ 0%に (非表示)、NDMA FP は 30~40%に減少した (図(3)-20)。塩素処理の後、さらに太陽光を照射したサンプルでは、NDMA FP_{CINH}が非照射 (遮光) 試

験区と比べほぼ変化しなかった。一方、塩素処理せず、光照射のみを行なった試験区では、ranitidine の分解とともに NDMA FP_{CINH} が減少するが、NDMA FP_{CINH} は ranitidine が 95% 以上分解した時点でも遮光試験区の 60% 以上残存していた (図(3)-19)。以上より、ranitidine が塩素処理、光照射または塩素処理後の光照射によって生成した分解産物にも、NDMA FP が残存することが示唆された。このように、親物質 (ranitidine) だけを監視していても、水処理や環境中で受ける作用により親物質の大部分が消失したとしても、有害物質生成能 (NDMA FP) は残留する可能性がある。



図(3)-19 西高瀬川上流部 (K-S1 から K-1 の約 1.6 km) における NDMA (a) と FAH (b) の流達率 (1) と非超過確率 (2) の予測値と実測値の比較



図(3)-20 Ranitidine の光照射、光照射と塩素接触、塩素接触後の NDMA FP_{CINH} の変化 (#は未実施を意味する)

本サブテーマにより、N-ニトロソアミン類とアルデヒド類の環境中存在実態と、その日間および季節変動が明らかとなった。また、下水処理場での処理実態についても明らかとなった。検出頻度および濃度が高かった NDMA, NMOR, FAH そして NDMA FP_{CINH} について、さらに調査を進めた。いずれも調査対象区域では、下水処理場からの寄与が大きいことが明らかとなった。NDMA については、オゾン処理を行っている下

水処理場の放流水中で高濃度で検出されるが、塩素処理を行っている下水処理場でも依然として放流が続いていることが明らかとなった。環境中では、日中は光分解により明瞭な減衰が確認され、昼夜問わず生分解の寄与が示唆された。太陽光強度の日間変動を加味したモデルにより、流下地点における NDMA 濃度の予測は、実測値と高い相関関係が確認され、モデルの有効性が確認された。しかし、ranitidine のように、塩素接触や光照射により化学構造が変換しても NDMAFP_{CINH} を残留する成分があることから、NDMAFP_{CINH} により水質を評価することの重要性が確認された。NDMAFP_{CINH} は、下水処理場で 90% 以上除去されることが確認されたが、調査区間最下流部でも残留が確認された。下水、下水処理水、河川水中の NDMAFP_{CINH} の分画により、前駆物質は水溶性が高く、中性から陽イオン性の割合が高いことが示唆された。NDMAFP_{CINH}、検出濃度から、dimethylformamide の寄与が高く、特に冬季に河川水中でその寄与率が高まることが確認された。NMOR については、調査対象地域の河川水中で比較的高頻度および高濃度で検出され、地域内の一つの下水処理場からの負荷が特出して高いことが明らかとなった。同下水処理場内での調査結果より、生物処理や塩素処理では濃度の変化はなく、流入水中に高濃度で含まれており、特に夕方以降の短時間に NMOR として流入していることが確認された。NMOR の前駆物質として報告のある morpholine について検討した結果、morpholine が同下水処理場の流入下水と接触することにより NMOR を生成し、その生成機構は、FAH を触媒とした亜硝酸との *N*-ニトロソ化によるものと推察された。現在の化学物質の審査で行われている活性汚泥による生分解試験同様、下水との接触試験や塩素接触試験や、各試験による分解産物の評価も必要だと考えられる。NMOR も光分解性を有しており、夏の日中は濃度低下が著しいが、夜間は保存的であった。このことから、NDMA 同様、夜間や悪天候時に河川を流下する水塊についても監視することの重要性が示された。一方で、NMOR は、光分解により morpholine を生成することが確認され、生成能としてこれらの物質を監視する必要性が確認された。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本サブテーマにより、*N*-ニトロソアミン類とアルデヒド類の環境中および下水処理場での処理実態、日間変動、季節変動についても明らかとなった。また、下水処理場に流入する化学物質が、下水と接触することにより有害物質に変換すること、河川流下過程で受ける光照射により変換するも有害物質へ変換する可能性（生成能）を残留する化学物質があることを明らかにした。特に *N*-ニトロソアミン類の中で検出濃度および頻度が高かった物質については、その前駆物質を示した。さらに、光分解を受ける化学物質の河川流下点（下流地点）における濃度予測モデルを構築した。

(2) 環境政策への貢献

本サブテーマにより、下水処理場に流入する化学物質が、下水と接触することにより有害物質に変換すること、河川流下過程で受ける光照射により変換するも有害物質へ変換する可能性（生成能）を残留する化学物質があることを明らかにした。このことより、河川流域に発達した都市における共通の問題である、河川上・下流における非意図的な水の再利用においては、現在の化学物質の審査で行われている活性汚泥による生分解試験同様、下水との接触試験や塩素との反応性試験、各試験による分解産物の評価も必要だと考えられる。さらに、本研究で示されたように、光分解性を有する化学物質や、光分解後も有害物質の生成能を残留する化学物質もあることから、浄水原水となる河川水等に対しては、夜間や悪天候時に河川を流下する水塊についても監視することが重要である。NDMA は、諸外国では ng/L レベルで基準値等が設定されているが、日本では現時点では要検討項目となっており、今後の検討に有益な情報を取りまとめることができた。

さらには、日本では検討項目とはなっていないが、諸外国では NDMA と同様に監視対象となっている NMOR についても、今後の評価に必要な情報を取りまとめることができた。

<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>

本研究では、化学物質管理における生成能試験の重要性を示した。具体的には、化学物質が公共下水道に排出され、公共下水処理場にて処理、河川などの受水域へ排出され、受水域での滞留時に受ける太陽光照射される際に有害物質を生成しうる、もしくはその影響の有無により生成能が保存されることを例示した。今後の生成能試験を中心とした化学物質管理において活用が期待される。また、NDMA 等諸外国では ng/L レベルで基準値等が設定されている物質の水環境・水処理プロセスでの挙動・存在実態は、今後の基準値設定に関する検討の基礎資料としての活用が期待される。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

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。

<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) 中田典秀：第 19 回日本水環境学会シンポジウム (2016)
「化学物質の規制および管理における生成能試験の導入について」
- 2) 中田典秀, 奥村昂平：第 26 回環境化学討論会 (2017)
「環境水中ホルムアルデヒド分析における共存物質からの生成抑制に関する検討」
- 3) B. ZHAO, N. NAKADA, K. OKUMURA, E. HASEGAWA and H. TANAKA：第 52 回日本水環境学会年会 (2018)
“Seasonal and diurnal occurrence of N-nitrosamines and their formation potentials in Yodo River Basin”
- 4) 奥村昂平, 趙博, 長谷川英資, 中田典秀, 田中宏明：第 52 回日本水環境学会年会 (2018)
「ラニチジンの塩素処理による N-nitrosamine 生成能に及ぼす光照射の影響評価」
- 5) B. ZHAO, N. NAKADA, K. OKUMURA and H. TANAKA: 第 27 回環境化学討論会 (2018)
“Distribution and fate of N-nitrosomorpholine in Surface Water and Sewage Treatment Plant”
- 6) 趙博, 中田典秀：第 21 回日本水環境学会シンポジウム (2018)
「淀川水系におけるニトロソアミン類とその生成能の存在実態」
- 7) 周嘉俊, 中田典秀, 趙博, 田中宏明：第 53 回日本水環境学会年会 (2019)
「ラニチジン分解産物の NDMA 生成への寄与」

(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) 第34回オゾン技術に関する講習会・見学会（主催：日本オゾン協会，2016年12月2日，：タワーホール船堀，参加者数約40名）にて講演
- 2) 第20回日本水環境学会シンポジウム企画セッション『流域規模での化学物質管理：測定手法と影響評価1』（主催：水環境と洗剤研究委員会，2017年9月27日，和歌山大学，セッション参加人数約40名）を企画，講演
- 3) 第21回日本水環境学会シンポジウム企画セッション『流域規模での化学物質管理：測定手法と影響評価2』（主催：水環境と洗剤研究委員会，2018年9月5日，鳥取大学，セッション参加人数約40名）を企画，講演
- 4) 平成30年度水質分析研修（主催：環境省環境調査研修所，2018年12月14日，環境省環境調査研修所，聴講者約40名）にて公演

(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) 中田典秀，板井周平，楊永奎，鈴木裕識，田中周平：土木学会論文集 G（環境），72，7，III95-III106 (2016)
「工業用化学物質の酸化処理過程における副生成物生成能試験法の提案」
- 2) USEPA: Washington, DC (1998).
“Direct photolysis rate in water by sunlight, Fate, transport, and transformation test guidelines” OPPTS 835.2210
- 3) USEPA: Washington, DC, (1998).
“Shake Flask Die-Away Test, Fate, transport, and transformation test guidelines” OPPTS 835.3170.
- 4) S.S. MIRVISH: Toxicol. Appl. Pharmacol., 31, 3, 325-351 (1975).
“Formation of *N*-nitroso compounds: chemistry, kinetics, and *in vivo* occurrence”
- 5) S.S. MIRVISH, M.D. RAMM, J.P. SAMS and D.M. Babcook: Cancer Res., 48, 5, 1095-1099 (1988).
“Nitrosamine formation from amines applied to the skin of mice after and before exposure to nitrogen dioxide”
- 6) S. HANAMOTO, N. NAKADA, N. YAMASHITA and H. TANAKA: Environ. Sci. Technol., 47,23, 13571-13577 (2013). “Modeling the photochemical attenuation of down-the-drain chemicals during river transport by stochastic methods and field measurements of pharmaceuticals and personal care products”
- 7) J.L. LE ROUX, H. GALLARD, J.P. CROUÉ, S. PAPOT and M. DEBORDE: Environ. Sci. Technol., 46, 11095-11103 (2012)
“NDMA formation by chloramination of ranitidine: kinetics and mechanism”

- 8) D.E. LATCH, B.L. STENDER, J.L. PACKER, W.A. ARNOLD, W.A. and K. MCNEILL: Environ. Sci. Technol., 37, 3342-3350 (2003)

“Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Cimetidine and ranitidine”

Ⅲ. 英文 Abstract

Study on the Management of Anthropogenic Chemicals with the Consideration of Their Transformation Processes

Principal Investigator: Shinya Echigo

Institution: Graduate School of Engineering, Kyoto University

C1-231, Nishiko, Kyoto 615-8540, JAPAN

Tel: +81-75-383-3255 / Fax: +81-75-383-3256

E-mail: echigo.shinya.6u@kyoto-u.ac.jp

Cooperated by: Kyoto University

[Abstract]

Key Words: Disinfection byproducts, Precursors, Intermediates, Fluorinated compounds, Basin-wide chemical management

Some of anthropogenic compounds could transform to more toxic and regulated compounds in the aquatic environment and (waste)water treatment processes. To better deal with this situation and better manage the chemicals released from our daily activities, this study addressed several issues related to the transformation of anthropogenic compounds. This study mainly consists three parts: (1) haloacetic acid (HAA) formation in drinking water chlorination; (2) the formation of perfluorinated compounds (PFCs), compounds such as PFOS and PFOA in wastewater treatment; (3) the fate of *N*-nitrosamines and their precursors in aquatic environment and wastewater treatment.

In the first part, HAA potentials (HAAFPs) of 155 anthropogenic compounds listed on the Japanese pollutant release and transfer register (PRTR) system during water chlorination were evaluated. The results showed that aromatic amines are important HAA precursors in addition to phenols, well-known precursors of HAAs. The effects of biological treatment before chlorination were also investigated. HAAFPs tend to decrease or be unchanged after biodegradation with a few exceptions (i.e., hydroquinone and acrylic acid). Also, a fractionation technique with hydrophilic interaction chromatography revealed the presence of extremely polar precursors of HAAs in the aquatic environment.

In the second part, it was found that a significant amount of polyfluoroalkyl phosphate esters (PAPs) originating from cosmetics are discharged to sewer systems and a part of them are transformed to PFOA during biological treatment. Also, a part of PAPs were converted to fluorotelomer alcohols (FTOHs) indicating the release of these fluorinated compounds to atmosphere. In addition, a new non-target analysis was developed to better characterize the precursors of PFCs. For this purpose, a fragmentation flagging technique with a liquid chromatography-ion mobility-quadrupole time of flight mass spectrometer (LC/IM-QTOF-MS) was useful.

In the third part, it was found that ranitidine, a well-known precursor of *N*-nitrosodimethyl amine (NDMA), possesses NDMA formation potential even after chlorination and photodecomposition indicating the importance of formation potential tests in addition to the

monitoring the original compounds. The major contributor to NDMA formation potential in an actual wastewater treatment plant was dimethylformamide. In addition, the formation of *N*-nitrosomorpholine from the reaction of morpholine and nitrate ion catalyzed by formaldehyde was confirmed.