

国立環境研究所特別研究報告

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan

SR-67-2006

有機フッ素化合物等POPs様汚染物質の発生源評価・対策 並びに汚染実態解明のための基盤技術開発に関する研究

(特別研究)

Study on the establishment of scientific and technical foundation for assessment of sources, development of destruction method and elucidation of pollution status of POPs-like compounds, especially organofluorine chemicals

平成15～17年度

FY 2003～2005

NIES



独立行政法人 国立環境研究所

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

<http://www.nies.go.jp/>

有機フッ素化合物等POPs様汚染物質の発生源評価・対策
並びに汚染実態解明のための基盤技術開発に関する研究
(特別研究)

Study on the establishment of scientific and technical foundation for assessment of sources, development of destruction method and elucidation of pollution status of POPs-like compounds, especially organofluorine chemicals

平成15～17年度
FY 2003～2005

特別研究「有機フッ素化合物等POPs様汚染物質の発生源評価・対策並びに
汚染実態解明のための基盤技術開発に関する研究」
(期間 平成15～17年度)

特別研究責任者：柴田康行
特別研究幹事：柴田康行
特別研究報告書編集担当：柴田康行

序

本報告書は、平成15～17年度の3年間にわたって実施した特別研究「有機フッ素化合物等POPs様汚染物質の発生源評価・対策並びに汚染実態解明のための基盤技術開発に関する研究」の研究成果を取りまとめたものです。

PCBなど環境残留性、生物蓄積性が高く、毒性、有害性を有する化学物質、いわゆる残留性有機汚染物質（Persistent Organic Pollutants：POPs）は、汚染物質の中でも特に取り組み優先順位が高く、我が国では化学物質審査規制法において優先的に取り締まりが進められています。また、これらは越境移動により発生源から遠く離れた極地などにも移動し、全球的な汚染の拡大が見られることが特徴です。国際的な協力のもとにPOPs汚染の低減を図るため、2001年にストックホルム条約が締結され、2004年5月に発効しました。この条約で指定されているPOPs12物質（群）はいずれも国内では規制対象になって久しく、環境中の濃度レベルの監視、ストックパイルの把握と分解などの取り組みが進められてきています。一方、化学物質の中には同様にPOPs様の性質を持ちながら、環境放出や汚染実態などに関する情報が不足し取り組み優先度の評価や対策立案が難しい物質も少なくありません。ストックホルム条約には新規POPs追加登録の仕組みも備わっていますが、ここではPOPs様の性質を持つ汚染物質の中で特に注目される化学物質群を2種類選び、国内における汚染実態の解明、発生源評価、並びに対策を進めるための基礎的な研究を実施しました。

化学物質には、PCBのように目的をもって人工的に合成される意図的生成化学物質と、ダイオキシン類のように別の物質の合成過程や燃焼過程などで意図せずに生成される非意図的生成化学物質があります。それぞれに対策の方向性が大きく異なり、ここでは意図的生成物質の一例としてパーフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）などの有機フッ素系界面活性剤を、また非意図的生成物質として大気中燃焼生成炭素成分、特に多環芳香族炭化水素PAHsを取り上げました。PFOSは半世紀近くに渡って生活の様々な面で便利に使われた末に、最近最大手企業が環境配慮から製造を中止して話題となった化合物です。水にも油にも比較的溶けやすい点で従来のPOPsとは化学的に大きく異なっており、環境挙動にも違いが想定されます。様々な用途があり、極めて多くの環境放出ルートが想定されたことから、最初に汚染実態の把握と主な環境放出ルートの探索に関する研究を推進しました。特に二枚貝を指標生物として用い、沿岸汚染の地理分布を明らかにしました。また、野生生物に対する曝露指標の探索を目的として、魚類への投与実験によるバイオマーカーの探索と同定、さらには汚染水あるいはストックパイルの分解にむけた基礎実験として光分解法に関する検討と分解条件の確立を行いました。一方の非意図的生成発生源である大気中燃焼生成炭素成分並びにPAHsについては、バイオマスに含まれ化石燃料には含まれない放射性炭素¹⁴Cを指標として用いる発生源の定量的な把握方法の確立を進めました。これは国内においてはまだ類似の研究が少ない手法ですが、今回の研究によって基盤技術開発の重要性とポテンシャルの大きさを示すことができたと思います。またPFOSは本研究推進の途中でストックホルム条約への追加POPsとして提案され、現在審査が進められています。本研究は、POPsを巡る国際的な動きに対してタイミングよく先行しながら推進され、有用な成果をあげることができたと思います。

本研究の成果が、今後のPOPs関連研究並びに行政施策の推進に活用されることを願ってやみません。

平成18年12月

独立行政法人 国立環境研究所
理事長 大塚 柳太郎

目 次

1 研究の目的と経緯	1
2 研究の成果	3
2.1 PFOS並びに類縁の有機フッ素系界面活性剤に関する研究	3
2.1.1 文献情報－PFOS等の主な用途と生産量、環境放出ルートについて－	3
2.1.2 東京都下河川中のPFOSの測定、並びに下水処理過程での動向把握	7
2.1.3 二枚貝を用いた全国の沿岸汚染調査	15
2.1.4 有機フッ素系界面活性剤に対する曝露マーカーの 探索並びに体内分布に関する予備検討	22
2.1.5 PFOSの光分解条件に関する研究	24
2.2 放射性炭素 ¹⁴ Cを用いた大気粉じん中炭素成分並びに多環芳香族炭化水素の 発生源解明に関する研究	29
2.2.1 はじめに	29
2.2.2 大気粉じん中炭素成分の粒径別の ¹⁴ C/ ¹² C比測定並びにその季節変化、経年変化	31
2.2.3 大気粉じん中炭素成分の有機・無機成分への分画方法の開発、並びにそれぞれにおける ¹⁴ C/ ¹² C比の測定	34
2.2.4 大気粉じん中多環芳香族炭化水素の ¹⁴ C/ ¹² C比測定と発生源に関する検討	36
2.2.5 まとめ	38
2.3. まとめ	40
引用文献	42

〔資 料〕

I 研究の組織と研究課題の構成

- 1 研究の組織
- 2 研究課題と担当者

II 研究成果発表一覧

- 1 誌上発表
- 2 口頭発表

1 研究の目的と経緯

現代文明は化学物質の利用の上に成り立っているといっても過言ではない。日常的に使われる化学物質の数は10万種類にのぼるとも言われ、我々の生活の隅々にまで行き渡り、快適で便利かつ安全な暮らしを支えてくれている。こうした数多くの化学物質の適正な利用を図り汚染を防止するために、化学物質の新規利用にあたっては、特に人の健康維持並びに生態系、環境の保全の観点から厳しい審査が科せられている。「化学物質の製造並びに審査等に関する法律（化審法）」においては、特に環境残留性が高く、生物濃縮性があり、毒性あるいは生態毒性を有する化学物質（POPs（Persistent Organic Pollutants）としての性質を有する物質）を取り組み優先度の高い化学物質と認識して規制対象としている。すなわち、これらの性質のいずれについても一定のクライテリアを設け、全部をクリアできないものは製造・使用状況の監視あるいは環境レベルの監視を行うなどの対策が取られる。特に、すべての項目で基準を超える物質は第1種特定化学物質に指定され、その製造、輸入並びに使用は原則禁止される。

これらPOPsの廃絶並びに汚染の低減を目指す国際条約であるストックホルム条約が2001年5月に制定され、50カ国が加盟して90日後の2004年5月に発効した。ストックホルム条約では、ダイオキシン、フラン、PCB、DDT、HCB、アルドリン、ディルドリン、エンドリン、クロルデン、ヘプタクロル、マイレックス、トキサフェンのあわせて12種類の有機塩素化合物が条約対象物質に指定され、その廃絶、削減にむけて様々な取り組みが求められるほか、新たな物質の追加の仕組みやモニタリングデータに基づく条約有効性評価なども規定されている。我が国も2002年8月にこの条約を批准して締約国となり、POPsの低減、廃絶に向けて、さらなる取り組みを進めている。以後、ここではPOPsという言葉がこのストックホルム条約に規定された12種類に限って用いることとし、それ以外の類縁化合物をPOPs様化学物質と総称することとする。

本研究では、こうしたPOPsとしての性質を有する化学物質汚染への取り組みをさらに推進することを目的とし、特に現時点で条約対象外のPOPs様化学物質の中から研究として取り組み優先度の高いと考えられる対象、項目を選んで関連研究を進めた。分析化学的アプローチを核としながら、条約や国内外の規制の動向などにも留意しつつ、環境存在状況と環境動態の解明、並びに汚染源の定

性的・定量的把握を通じて効果的な対策立案に貢献する筋道を確立することを目指した。そのために、対象となるPOPs様化学物質を大きく意図的生成物質と非意図的生成物質とに分け、それぞれについて取り組み優先度の高い化合物（群）を具体的な対象として選定し、効率的な研究推進を図っている。対象物質としては、意図的生成化学物質としてPFOS（Perfluorooctane sulfonic acid）並びに関連する有機フッ素系界面活性剤を、非意図的生成化学物質としては多環芳香族炭化水素（PAHsと総称）をそれぞれ選定し、以下のような研究を行った。

PFOSは1950年代半ばに開発され、以後半世紀近くに渡って様々な用途に使われてきた有機フッ素系界面活性剤であるが、2000年になり最大手の製造企業が環境への配慮を理由に突如製造中止を表明して世界的に大きな衝撃を与えた化合物である。化学的に極めて安定で、環境残留性は高い。撥水性と撥油性を併せ持つ特異な化学的性質を利用して様々な表面処理の用途に使われてきたが、遠隔地の野生生物からも高い濃度で検出されたほか、製造工程にかかわる労働者以外に一般人の血液中からも検出され、広く汚染が進んでいる状況が明らかになってきている。動物実験ではサル長期曝露試験並びにげっ歯類での2世代試験で、いずれもmg/kg/dayを下回る低い濃度で影響が認められた。こうした背景から、PFOSについては2005年にストックホルム条約の対象物質の追加候補としてスウェーデンから提案がなされ、現在審議が進められているところであるが、本研究でも周辺状況に鑑みて取り組み優先順位の高い物質として取り上げ、2003年度から分析法整備並びに我が国の排出状況と汚染実態の解明を目指して研究を開始した。PFOSの類縁化合物としては、末端がスルホン酸ではなくカルボン酸で炭素数の異なる多くの種類のものも知られており、研究推進にあたってはこれらの類縁有機フッ素系界面活性剤もあわせて分析を行った。

一方のPAHsはベンゼン環を複数組み合わせた極めて多種類の化合物を有する物質群で、化石燃料、木材、紙など様々な物質の燃焼に伴い非意図的に生成される。これらの中にはベンツ(a)ピレン（BaP）など発ガン性を有する有害物質も知られており、人の健康リスクを考える上で重要な化合物群の一つと考えられる。ストックホルム条約の対象ではないが、その母体とも目されるEUの

LRTAP (Long Range Transboundary Air Pollutants) 条約の対象化学物質に含まれており、また米国でもこのうちのBaPがPBT (Persistent and Bioaccumulative Toxicants)として監視の対象にされている。さらに、国連環境計画UNEPがGEF (Global Environment Facility)の資金を得て2001~2003年に実施したGEF/UNEP Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substancesプログラムでも、世界の様々な地域で優先順位の高いPTS (残留性毒性物質)として挙げられるなど、取り組み優先度の高い化合物群と目される。

本研究では、これらの2つの化学物質(群)について、それぞれの特徴を考慮しつつ異なるアプローチで研究を進めた。意図的生成物質であるPFOS及び類縁のパーフルオロカルボン酸化合物は界面活性剤としての構造、性質をもつ。使用の際には極性基側で固定して物質の表面をパーフルオロ構造で覆う形を一般にとり、撥水性、撥油性、あるいは化学的安定性を付与する。一方、化合物単体では水溶性も脂溶性も適度に有しており、その環境動態、生物濃縮過程は一般的なPOPsのように水-オクタノール分配比では代表できない。衣類やじゅうたん、紙製品などの表面加工、床磨き剤等への添加、ゴム・プラスチック製品の離型剤、フッ素樹脂製品の乳化剤など、日常生活の中で一般人が接する極めて多くの用途をもつ。そのほとんどは表面への塗布あるいは微量成分としての利用であり、様々な経路からの環境放出や人への曝露が想定されるものの、その実態については不明の点が多い。本研究では、用途に関する情報を整理して主要な発生源、環境放出ルートの予測を行うと共に、人口密集地帯の東京の河川の汚染状況、下水処理場からの放出状況の把握、全国レベルの沿岸域汚染実態解明を通じて予測の妥当性を検証し、今後必要に応じて汚染低減を図るための対策立案に資する情報を整理することを一つの目標とした。

界面活性剤の仲間にはダイオキシン分析などこれまでの環境分析に多用されてきたGC/MSでは測定ができず、従来高感度分析手法のないことが環境モニタリングなど基礎情報の提供の大きな障害となってきたが、近年急速に開発、普及が進んでいるLC/MSあるいはLC/MSMSを分析手段とすることで高感度測定が可能になると期待される。PFOS等については水試料について分析法開発並びに実測データの報告が出されているが、複雑なマトリックスを有する生物試料への適用については技術的に解決されるべき問題がまだいろいろと残されている。本研究

では、特に生物試料を中心に前処理法の確立を進めながら、沿岸域の二枚貝の分析により全国的な汚染状況の把握を進め、上記の発生源情報の検証、評価を試みた。さらに、野生生物における有機フッ素系界面活性剤への曝露の指標となるバイオマーカーの探索を進めると共に、ストックパイルの処理、高濃度汚染水の処理技術の開発を目指して分解方法に関する基礎研究も推進した。

一方のPAHsについては、燃焼起源の発生を念頭におき、大気粉じんを主たる対象としながら研究を推進した。従来のChemical Mass Balance (CMB) 法等の推定の妥当性を分析的に検証するための新しい分析手法として、バイオマスに一定レベル含まれる一方化石燃料には含まれない放射性炭素¹⁴Cの濃度レベルを大気粉じんの粒径別、有機・元素炭素別、さらに環境中化学物質それぞれについて測定する、新たな発生源毎の寄与の見積もり手法を開発し、発生量の効率的な削減のための対策立案に資することを目標において研究を推進した。

なお、これらの2種類の化学物質は、ダイオキシン類と同様に、生体内で特定の受容体と強く結合して特異的な生体応答を引き起こすことが共通した特徴としてあげられる。すなわちPFOS並びにPFOAその他のパーフルオロカルボン酸はPPAR (Peroxisome Proliferator Activator Receptor)と結合して脂肪酸などの代謝酵素を含む細胞内小器官であるペロオキシゾームを誘導する。一方のPAHsはダイオキシン類と同じくAHリセプターへの強い選択的結合により、異物代謝酵素系を誘導する。その意味では、いずれもダイオキシン類同様、低い濃度で特異的な生体応答を誘導し、そのことが毒性発現とも関連する点に見える点で生体内化学情報かく乱型の特徴を有しており、この意味でも注意すべき化学物質群と考えられる(PFOSは脂肪酸アナログであるが誘導された脂肪酸分解酵素に代謝されない点でダイオキシン類と類似するのに対し、PAHsは代謝活性化をうけて体内で毒性を発揮する点は異なる)。ただし、特別研究クラスの予算規模、期間の研究では総合的、多面的に研究を進めることは事実上難しく焦点を絞る必要があり、本研究においては汚染実態の解明と発生源の解明に関する研究を主たるテーマに選び、毒性機構に関する研究は対象外とした。そのかわり、実際には翌年度にスタートした他の研究と連携をとってPFOSの毒性試験を実施し、その際に実験動物の組織を採材してもらい、摂取後の体内分布について新たな知見を得ることができたので、あわせて報告する。

2 研究の成果

2.1 PFOS並びに類縁の有機フッ素系界面活性剤に関する研究

2.1.1 文献情報(1) -PFOS等の主な用途と生産量、環境放ルートについて-

PFOS並びに類縁の有機フッ素系界面活性剤は、いずれもフッ素に完全に置換されたアルキル基 (Perfluoro-) 部分の末端に親水性の解離基であるスルホン酸ないしカルボン酸を持つ。フッ素は電気陰性度が高く、C-F結合は単独では大きな極性を有するが、全フッ素置換された長鎖アルキル基は強固なC-F結合のために化学的には極めて安定な化合物となる。そのため、テフロンなどフッ素含有高分子の合成の際の乳化剤として広く使われてきた (特にPerfluorooctanoic Acid (PFOA))。また、炭素数が8個ないしそれ以上の直鎖アルキルパーフルオロ化合物は強い撥水性、撥油性を示し、衣類、絨毯などの表面の防汚加工、包装紙の撥水撥油加工などに広く使われている。さらに、様々な物質をはじく性質を利用しゴム・プラスチック製品製造時の鋳型からの離型剤として、さらには水成膜泡消化剤成分としての利用、電子材料への耐久性、耐摩耗性、帯電防止性付与などの目的での利用など、その用途は極めて多岐にわたっている^{1, 2)}。

その合成法は大きく電解フッ素化法とテロマー合成法に分けられる。電解フッ素化法 (Simons Electrochemical fluorination method ; ECF法) は親化合物 (PFOSの場合はn-オクタンスルホンフルオライド) をフッ酸に溶解して電流を流し、全部の水素を一度にフッ素に置き換える反応で、米国3M社がPFOS並びにPFOA製造に用いていた。反応中に副反応が進み、分岐型や炭素数の異なるものなど不純物が多く生成する (3Mの場合、直鎖状PFOSの収率は35~40%程度とされる³⁾)。その結果、最終製品におけるPFOSの純度は7割程度で、分岐状のもの、あるいは炭素数の異なるものが3割程度含まれることが一つの特徴となっている (同じくECF法で製造されたPFOAの場合は、純度8割とされる⁴⁾)。日本では名古屋工業試験所で様々な基礎研究が進められ、ジェムコでPFOS等の製造に使われた⁵⁾。一方のテロマー合成はテトラフルオロエチレン鎖をつないで目的の長さの物質を得る合成法で、DuPont社におけるPFOAの製造のほか、日本では旭硝子、ダイキンなどがこの手法を採用して様々なフッ素系界面活性剤を製造している⁵⁾。

その毒性、残留性、人体からの検出などに伴い3Mが製造中止を発表して以来、米国環境保護庁EPAのホームページにはPFOSの分析や毒性評価、また企業団体などとのやり取りに関する多くの情報が掲載された。さらに、3MによるPFOAのECF合成の停止、さらにDuPontの工場排水に由来する水源汚染事例の発生に伴って、PFOAに関する同様の情報もホームページに掲載され、これらの研究推進にあたって貴重な基礎情報を提供している。PFOSに関連してEPAホームページに掲載された情報、並びに関連の総説などの情報に基づいて、PFOSの製造の流れと主な用途ならびに米国内での生産量に関する情報をまとめたものを図1に示す^{3, 6-8)}。図でPOSFはPerfluorooctanesulfonyl fluoride, FOSAはPerfluorooctane sulfonamide, FOSEはN-alkyl perfluorooctane sulfonamidoethanolのそれぞれの略称である。

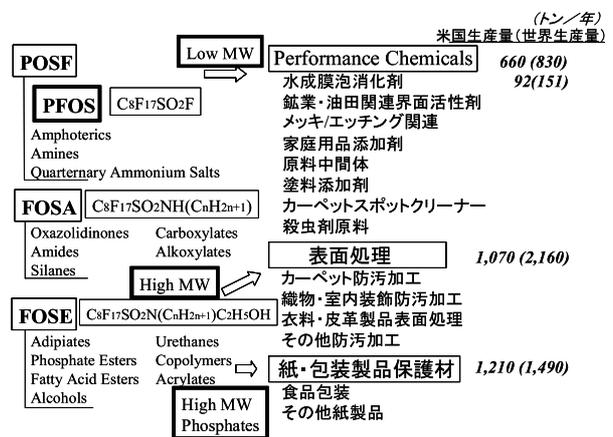


図1 PFOS並びに関連化合物の製造経路と主な用途、生産量

図に示されているように、PFOSは単体あるいは低分子のまま使われる用途 (Performance Chemicalsと総称) と、ポリマーと結合した上で衣類やじゅうたんなどの表面処理に使われる用途、さらに食品のパッケージその他紙製品の表面処理に使われる用途の3つに大別される。量的にはじゅうたん、衣類等の表面加工が最も多く、製造中止直前では世界全体で年間2,000トンを超えるPFOSがこの用途に使われていたとされる。次いで紙の加工用が1,500トン近くで、Performance Chemicals利用は830トン/年と推定された。日本国内では雨傘やレインコートの撥水加工用途から始まり、呉服や座布団の防汚処理、さらには家庭で使える防水スプレーなどへ用途が広がっていった。また、じゅうたんのスポットクリーナー、ワ

ックス、床磨き剤などのほか、写真フィルム（特にX線フィルムにおける静電気除去等）にも使われていた。一方、カーベットの防汚加工については米国では大きな市場となったものの、室内に土足で入らない日本では大きな広がりを見なかったとされる。また、食品包装についても米国FDAの認可を受けた製品が3Mから発売されて以来、ビスケットやチョコレート、さらにはバター、マーガリン、ドーナツなどの包装、あるいはファーストフードの包装へと用途が拡大していった⁵⁾。ごく最近（2005年；本研究最終年度）でも、米国において家庭で作るポップコーンの包装紙にPFOSが含まれていることがわかり曝露経路として問題とされるなど、その利便性を買われて生活のあらゆる面で利用された結果、極めて多くの一般人曝露経路が存在していた様子が伺われる。このほか、アリヤゴキブリ退治の餌への混入も報告されている。一方、水成膜泡消化剤については、特に地下駐車場、飛行場などでの利用が進められ、関連して軍事基地周辺での汚染事例なども報告されている。

EPAのホームページに掲載された3M関連の文書は、残念ながら用途ごとの具体的な化合物名や生産量などに関する情報がほとんど消されている。また、関連の情報の間に相互に矛盾した数値が引用されているケースも見られ、ここではとりあえずの目安と考えて以下の議論を進める。なお、カルボン酸タイプのPFOAについても米国内最大手は3MでECF法で合成しており、年間生産量は500トン以下、輸入量は100トン以下（1997年現在）と報告されている⁴⁾。その大半はアンモニウム塩ないしナトリウム塩として、テフロン等有機フッ素高分子材料の合成時の乳化剤やその後の利用時の安定剤等として、また写真や電子材料関連で使われた。一方、DuPontや旭化成、ダイキンなどはテロマー合成法で純度の高いPFOAを製造しており、フッ素樹脂の合成乳化剤としての利用が大きい。これまでに報告のある汚染事例もフッ素樹脂合成工場の周辺であり、PFOSとは環境放出実態の様子がかなり異なるものと想定された。さらに鎖の長さの異なる様々な長鎖パーフルオロアルキルカルボン酸が合成、市販されているが、これらの用途については詳しい情報が入手できなかった。

日本の国内でPFOS等のフッ素系界面活性剤を製造してきた主なメーカーは、旭硝子、ダイキン、大日本インキ化学、それにジェムコと考えられるが、これらの合成量については詳細な情報が見あたらない。化学工業日報

社のまとめた「〇〇種類の化学物質（各年度版；〇〇のころの数字が年により変化）」には、最近10年余りにわたって、（1）重合乳化剤 5トン/年、（2）塗料・インキ 5トン/年、（3）フロアポリッシュ・メッキ 3トン/年、（4）撥油紙 5トン/年、（5）その他 5トン/年、という数字が毎年掲載されており、これを当面の目安と考えたい。上記4社のうちジェムコ以外はテロマー合成法を採用したと考えられる。後でも触れるが、実際に日本の環境中のPFOSを分析してみると、テロマー合成で期待されるようなシンプルなピークではなく電解フッ素化特有の微量成分を含む複雑なパターンになる。おそらくは輸入、販売されたECF合成によるPFOSが量的に多かったのではないかと考えられる。また、研究開始前後に国内のいくつかの研究機関から報告された日本人の血液中のPFOS濃度も米国一般人の報告値と比較して同レベルから1/2～1/3程度の比較的高いレベルにあった⁹⁻¹²⁾。一般人の曝露レベルからみても実際の使用量に約3,000トン（米国）対23トン（日本；上記の生産量合計）もの差があったとは考えにくく、上記の輸入量が多かったとする推測を支持する結果に思える。一方、PFOAの方はシンプルな1本のピークからなり、恐らくテロマー合成起源のものが主成分と考えられる。

ちなみに、国内の他の有機フッ素化合物合成量と比較してみると、フルオロカーボン類（HCFC、HFC）が圧倒的に多く（平成14年度で12万トンあまり）、次いでフッ素樹脂が合計2万2千トンあまり（平成15年度；うち国内消費が半分の1万トン）、フッ素系ゴムは2,500トンを超える（平成14年）¹⁾。フルオロカーボン類は大気化学的には重要な作用を持ちうるが、一般人や野生生物への直接的な影響は考えにくい。環境中に放出される化学物質のうち生物影響が懸念されるもので単独で比較的量が多いのはフッ素系農薬類で、トリフルラリンが187トン、フルトラニルが124トン、フルアジナムが103トンなど（いずれも平成15年度）となっている¹³⁾。これらと比較すると、数字の上では上記の国内フッ素系界面活性剤の生産量は微々たるものに見える。しかしながら、最盛期の2000年でPFOSだけで世界全体で4,500トン前後生産されたこととされ、それだけの量のフッ素系界面活性剤に対するマーケットがすでに存在すること、極めて安定性、環境残留性が高く、最後は水溶性のモノマー（PFOS、PFOA等）として環境中に出て行くことが懸念されることを考え合わせると、これらのフッ素系界面活性剤の環

境汚染に関する潜在的な危険性と問題の大きさが浮かび上がってくる。先にも述べたが、乳化剤としての使用を別にすると、これらの界面活性剤の個々の利用については表面のみに薄く塗布したり、あるいは微量成分としての利用が主であり、一見すると大きな汚染の発生は考えにくい。しかしながら、毎年4,500トンもの合成物が作られて最後は環境に出て行き長く残留すると考えるならば、その環境への潜在的なインパクトは大きなものになりうるであろう。また、これらが有する化学的特徴はこれまでのPOPsとは大きく異なるものであり、その環境動態、生物濃縮の様子なども従来のPOPsとは異なる点があると考えられる。こうしたことから、環境汚染実態の解明とリスク評価を急ぐ必要性は高いと考えられ、これが本研究でPFOS並びに類縁有機フッ素界面活性剤を対象に選んだ主たる理由となっている。

PFOS, PFOAともに揮発性は一般に小さいと考えられ、主たる環境放出ルートは粉じん付着あるいは水にとけた形と考えられる。ただし、いずれも使用の場から遠く離れた遠隔地の環境でも検出されており、一部の誘導体の大気経由の長距離輸送が原因ではないかと考えられている。発生源となりうる産業としては、これらのフッ素系界面活性剤の製造元の他、これらの製品を利用するフッ素系樹脂の製造工場（特にPFOA）、繊維や織物関係で特に表面処理を実施する工場、半導体関連その他の電子材料関連企業、金属メッキやエッチング関連工場、製紙・紙工業、ゴム・プラスチック関連工場（例えば鋳型によるウレタンバンパー製造など）などが考えられる。様々な家庭用品、民生品にごく微量使われている可能性があり、家庭からは例えば洗濯、下水経由、あるいはゴミ経由の排出が考えられる。最終的には下水処理場、あるいは廃棄物処分場（からの浸出水）が発生源となりえよう。ダイオキシン対策の進んだ昨今の高温焼却炉で処理すれば、これらは基本的に分解されると考えられる。一方、衣類の洗濯や、その後の表面処理などを行う際に、クリーニング店等から発生するケースも考えられよう。下水経由のほか、土壌中にしみ込み地下水を汚染する可能性も考えられる。一方、地下駐車場や空港関連でPFOSを含んだ泡消剤施設の設置が報告されており、これらが動作した場合には周辺並びに下水の汚染が考えられる。また、航空機の油圧オイル中にPFOS等の有機フッ素系界面活性剤が含まれていると報告されており、空港周辺ではこれ由来の汚染も起きている可能性が考えられる。

ちなみに、実際の汚染報告事例では、軍事基地周辺の汚染が報告されている¹⁴⁾。また、鉱山や油田での使用も報告されており、これらからの環境放出の可能性も考慮に入れる必要がある。

3Mがまとめた文書「Sulfonated perfluorochemicals in the environment: Sources, dispersion, fate and effects」³⁾には、環境放出に関するいくつかの推測がまとめられている。Decaturにある製造工場からの環境放出の推測（PFOS equivalent量）によれば、PFOS製造過程における放出は大気へ19,000ポンド=8.6トン/年、焼却場へ送られる廃棄物中に657,000ポンド=298トン/年、埋立処分場へ送られる廃棄物中に380,000ポンド=172トン/年、廃水処理後の河川への放出が10,000ポンド=4.5トン/年などとなっている。廃水処理後の放出量は1998年に最大放出ルートに炭素吸着処理システムを導入した後の値で、このシステムにより99%以上の効率でPFOSの除去が可能になったと報告されている。この設置後、テネシー川へのPFOS排出量は約半分に減ったとされる。ちなみに、PFOAの製造工場からの環境放出については、3Mでは大気への合計6,450ポンド=2.9トン/年、水への合計45,000ポンド以下=20トン以下、DuPontでは大気への合計40,000ポンド=18トン、水への合計64,950ポンド=29トン、と報告されている⁴⁾。

上記の文書³⁾には、1997年の米国におけるPFOS関連商品のうち、89%を占める主要製品の利用にともなう環境放出量の推定が記載されている。結果を表1にまとめる。

表1 1997年における顧客並びに末端ユーザーのWaste Stream推定

Waste Stream	販売過程	使用	廃棄
大気	1.2トン	1.5トン	
排水	51トン	82トン	
固形廃棄物	27トン	171トン	572トン

食品関連で過去に使われたPFOS類縁化合物については、EPAのサイトに以下のような情報が記載されていた¹⁵⁾。食品と直接接触する紙への使用が許されている製品にはPP-1 (Grease and oil repellent)とPP-2 (Grease, oil and water repellent)の2つのカテゴリーがあり、PP-1にはBis (N-ethyl-2-perfluoroalkylsulfonamido ethyl) phosphateのアンモニウム塩が記載されている（3Mの別の情報で

はdi-体が85%で最も多いが、他にmono-が10%、tri-が5%となっている)¹⁶⁾。PP-2はかなり種類が多いが、主要な形態はスルファミド部分がエチル化ではなくメチル化されたN-methyl-perfluoroalkylsulfoamido ethyl alcoholとアクリル酸とのコポリマーとなっている。なお、製紙・紙包装業界におけるパーフルオロ化合物の利用は95%が製紙工場における紙の製造段階に集中している。米国の製紙工場の場合、うち73%が紙類の表面に防水性等を与えるための水溶性コーティングをほどこすSize pressと呼ばれる工程で使われるとされる。

ほかにも各種の情報が時間的な順番に従ってEPAのE-docketサイトに取りまとめられ、公開されている。3Mがまとめた「Fluorochemical use, distribution and release overview」¹⁶⁾には、PFOS関連の主要な用途の情報がまとめられている。生産量あるいは各用途に用いる化合物の名前などの情報はすべて削除されているが、各種製品の具体的な使用工程情報、あるいは製品使用に伴う可能性のある曝露者数などの情報が取りまとめられている。主な用途として説明があるのは、

- * カーペット 用途はResidential Carpet, Commercial Carpet, Transportation Carpet, Area Rugsの4つのカテゴリーに分類される。カーペット工場及び繊維製造業からの流通ルートと主な曝露作業者のリスト、製造工程におけるPFOS含有製品の使用工程と廃棄物量などがまとめられている(主な数字、化合物名など削除)
- * その他の家庭装飾関連 家具、室内装飾用品の織物部分の防汚処理、その他寝具、シャワーカーテン、テーブル掛けなど、また自動車関連内装など。使用法としてSpray (3/4は閉鎖系、1/4は開放系でスプレー)、Foam, Padの3通りの手法が1/3ずつ使われている。これらの販売ルートとその過程での曝露可

能性のある作業員、製造量と用途(具体的情報削除)などがまとめられている。ほかに医療などで使われる不織布関連情報。

- * アパレル、皮革関連 販売前の処理のほか、各家庭での手入れ用品：レインコート、スポーツウェア、背広、ボートカバー、テント、シャツ、靴・長靴、皮ジャン、ハンドバッグ、手袋、椅子やソファ、これらの手入れのための各種スプレー、靴クリーム、磨き材など。製造工程では96%がPadで使用。その他写真のネガフィルムのコートなどにも利用あり。
- * パフォーマンスケミカル 消火剤、探鉱・石油掘削、メッキ・エッチング、家庭用品(クリーナー、ワックス、床磨き、表面コート、写真フィルム処理)、インク混入、高分子合成中間体、電子部品のワックスコート剤、カーペットスポットクリーナー、アリヤゴキブリ誘因剤へのブレンドなど。
- * 紙製品・包装材 ここも数量は削除されているものの、特に食品関連については化合物名など比較的详细な情報が記載されている。

業界とのやりとりの文書などには、様々な業種における製品利用に伴う物流と作業員曝露の可能性に関する情報も記載されているケースがある。これらの中には、PFOS類の継続使用を希望する例外的な用途として、例えば航空機用の油圧オイルへの添加、半導体産業におけるフォトリソグラフィプロセス中フォトレジストとAnti-reflective coatings過程への使用、などの提案がよせられている。半導体業界からよせられた文書の中には、半導体製造工程にかかわるphotolithography過程でのマスキングが記載されていた¹⁷⁾。その情報を図2に示す。

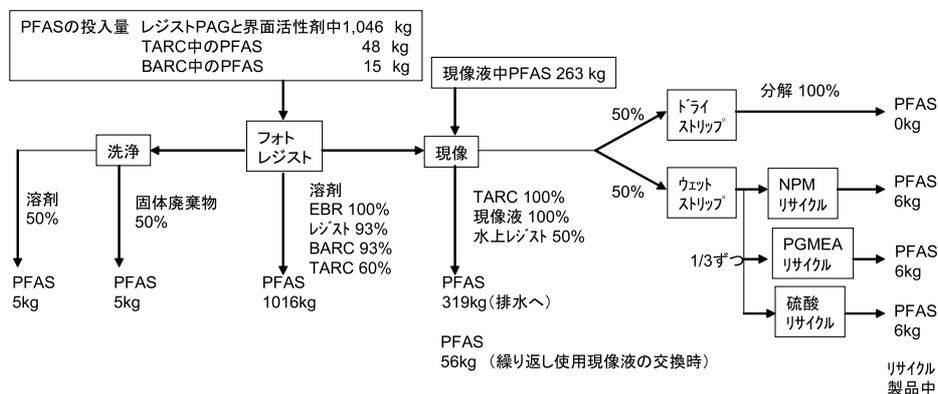


図2 米国の半導体産業におけるフォトリソグラフィプロセスでのパーフルオロアルキルスルホン酸の取支

残念ながら個々のケースについては以上のような断片的な情報しか見あらず、特に国内について、全貌を把握できるような詳しい定量的なデータを見つけることができなかつた。本研究では、以上の断片的、定性的な情報をもとに、下水を経由した河川水への放出をPFOSなどのパーフルオロ化合物の主な環境放出ルートと考え、以下その実態解明に取り組むこととした。上記のように多様な利用形態があり、水経路としても様々な環境放出ルートが考えられることから、住宅に加えて様々な業種の集まる大都市の代表として東京を選び、下水処理場を経由した河川への放出を主たる対象に、東京都（環境科学研究所並びに下水道局、水道局）と連携を取りつつ分析作業を進め、実態解明に努めることとした。その過程で、特定の下水処理場から比較的濃度の高いPFOSの流出が認められたため、下水処理過程でのPFOSの挙動について追跡を行った。また、二枚貝（ムラサキイガイ、ムラサキイコ及び類縁のイガイ科の貝）中のPFOS並びに一連のパーフルオロアルキルカルボン酸の分析手法を確立し、全国の沿岸域から集めた二枚貝中のこれらの濃度を測定し、日本の沿岸の汚染状況を把握することとした。さらに、魚に曝露して特異的に誘導されるタンパク質を探索し、曝露指標となるバイオマーカーの探索を行ったほか、ストックパイルの分解や汚染水の処理法の開発を念頭に基礎的な技術開発を進めるため、光分解実験を行った。以下、これらの研究結果を順に記載する。

2.1.2 東京都下河川中のPFOSの測定、並びに下水処理過程での動向把握

(1) パーフルオロ界面活性剤の分析法の開発

PFOSやPFOAなどパーフルオロ界面活性剤の定量は液体クロマトグラフィー/質量分析法 (LC/MS) を用いる方法が一般的で、例えば化学物質分析法開発調査報告書(平成15年度)にも記載されている。界面活性剤のように親水性であり水溶解度に富む性質を有する物質 (表2) の定量手段としてLC/MSの適用は第一の選択肢であり、末端にスルホン基を有するPFOSに対しても測定は可能と思われる。

表2 PFOSとPOPsの蒸気圧と水溶性の比較

	蒸気圧 (Pa at 20°C)	水溶性 (mg/l)
PFOS	3.3×10^{-4}	300~600
<i>p,p'</i> -DDT	2.6×10^{-4}	0.003
PCB-153	2.5×10^{-4}	0.038

一方、PFOSの構造からその環境残留性は非常に高いと考えられており、国内河川において実施された研究調査ではほとんどの試料からPFOSが検出されている。しかしながら、水環境中の濃度レベルはおよそng/lとの報告であり、必ずしも高濃度で存在しているとは限らない。そのため、ブランクの削減を含め検出感度の向上に力点を置いた分析法の改良が必要とされている。本検討においてはLC/MSによる測定を定量法のベースとして採用することにした。また、開発にあたっては感度や正確さに加えて再現性、移動性、簡便さ、ハイスルーブット、夾雑物の影響の抑制などにも十分に留意した。

1) 実験条件

[試薬]

PFOS標準物質：ABCR製のPerfluorooctane sulfonate potassium salt (純度98%以上) を用いた。

13C-PFOS標準溶液：Wellington Lab製のSodium perfluoro-1-[1,2,3,4-¹³C₄]octanesulfonate (メタノール, 50μg/ml) を用いた。

PFOS標準液：約100mgの上記PFOS標準物質を正確に秤量し、精製水/メタノール(3:7) 1,000mlに溶解し原液とした。この原液を精製水/メタノール(3:7) を用いて適宜希釈させて0.1μg/lから100μg/lの標準液を調製した。

メタノール：和光純薬工業製のHPLC用を用いた。

アセトニトリル：和光純薬工業製のHPLC用を用いた。

酢酸アンモニウム：ニッポンジーン製の10M酢酸アンモニウムを用いた。

精製水：ミリポア製Milli-Q超純水装置にて処理したものをを用いた。

固相カートリッジ：OASIS HLB Plus (225mg), Sep-Pak Plus tC18 (400mg), Sep-Pak Plus PS2 (以上Waters社製), Presep-C Agri (220mg) (和光純薬製)

その他：用いた試薬は和光純薬工業製の特級ないしLCMS グレードのものを、さらなる精製等を行わ

ずそのまま分析に供した。

[分析機器]

<LC/MS条件>

* LC条件

機種：Agilent 1100

カラム：Zorbax XDB C18 (150 mm×2.1mm, 3.5µm)

移動相：A：10mM 酢酸アンモニウム水溶液 B：アセトニトリル (A：B=55：45)

流量：0.2ml/min

カラム温度：40℃

注入量：10µl

* MS条件

機種：Agilent MSD SL

イオン化：ネガティブエレクトロスプレー

フラグメント電圧：220V

キャピラリー電圧：4000V

ネブライザー：50psi, 窒素

乾燥ガス：窒素, 10.0l/min, 350℃

SIM (モニターm/z)：499 (定量用), 500 (確認用)

基礎検討

[標準液の保存性試験]

PFOS 1 µg/l標準液を4種類の異なるメーカーの容器 (Fisher製15mlポリプロピレン容器, Iwaki製15mlポリプロピレン容器, 汎用15mlポリプロピレン容器, 15mlガラス製容器) に10ml分取し, 密閉条件下, 特に遮光をせず室温 (23℃) にて2日間, 10日間, 20日間, 30日間放置後の標準液中のPFOS濃度をLC/MSにより測定した。なお, 標準液の溶媒としては精製水と精製水/メタノール (1：1) の2種類を用いて比較を行った。LC/MSにおける測定時には, 濃縮をせずに直接溶液の一部をポリプロピレン製バイアルに分取したものを使用した。

[容器からの溶出試験]

精製水または精製水/メタノール (1：1) を10ml分取し, 密閉条件下, 特に遮光をせず室温 (23℃) にて4種類の異なるメーカーの容器 (Fisher製15mlポリプロピレン容器, Iwaki製15mlポリプロピレン容器, 汎用15mlポリプロピレン容器, 15mlガラス製容器) 中で2日間, 10日間, 20日間, 30日間放置後の溶液中のPFOS濃度を

LC/MSにより測定した。LC/MSにおける測定時には, ロータリーエバポレーターにて1mlまで濃縮し, その一部をポリプロピレン製バイアルに分取したものを使用した。

[固相カートリッジからの溶出試験]

4種類の異なる固相カートリッジ (Waters製OASIS HLB Plus, Waters製Sep-Pak Plus tC18, Waters製Sep-Pak Plus PS 2, 和光純薬工業製Presep-C Agri) にメタノールおよびアセトニトリル 5 mlを通液させた。各カートリッジからの溶出液をロータリーエバポレーターによる濃縮乾固後, 水-メタノール混合溶媒 (200µl) に転溶し, 十分にかくはんした後にLC/MSにより測定した。

[窒素濃縮過程における回収率試験]

3種類の異なる容器 (Fisher製15mlポリプロピレン容器, Iwaki製15mlポリプロピレン容器, 15mlガラス製容器) にアセトン 1 mlまたはメタノール 1 mlに分取し, そこにPFOS 10ng (100 ppb標準液を100µl) を添加した。十分にかくはん後, 窒素気流により溶媒を乾固させ (完全な乾固の直前状態まで), 精製水/メタノール (1：1, 1ml) を加え定容し, 30秒間かくはんし超音波振動 (31Hz, 15分間) 後に溶液の一部に分取してLC/MSにより測定した。

[固相カートリッジへの負荷pH試験]

2種類の異なる固相カートリッジ (Waters製OASIS HLB Plus, 和光純薬工業製Presep-C Agri) を用いて検討を行った。カートリッジのコンディショニングとしてはメタノール 3 mlおよび精製水 3 mlを順次通液させたものを使用した。PFOS 10ngを含む精製水 2 mlに酢酸またはアンモニア水を混合させたものを試料水として, 固相カートリッジへシリンジを用いて全量を負荷させた (通液速度：毎分10ml)。メタノール 5 mlでバックフラッシュ溶出を行いロータリーエバポレーターによる濃縮乾固後, 精製水/メタノール (1：1, 500µl) を添加し, 十分にかくはん溶液の一部に分取してLC/MSにより測定した。

2) 分析法の基礎検討結果

[標準液の保存性試験]

・精製水における保存性

保存溶媒に精製水を使用した際には, 2日間放置後でも

その濃度はほとんど変化がなくFisher製（ $0.85 \pm 0.05 \mu\text{g/l}$ ：平均値 \pm 標準偏差）を除くいずれの容器とも $0.92 \sim 1.03 \mu\text{g/l}$ の範囲で存在していた。10日間放置後は、各容器において検出されたPFOS濃度は明らかに低くなっており（ $0.71 \sim 0.92 \mu\text{g/l}$ ）、2日間放置後との比較ではその検出濃度はいずれの容器とも約10%減少していた。20日間放置後は、ガラス製容器を除いて10日間放置後の結果とあまり大差のない結果となった。ガラス容器に関しては極端に濃度の低い試料が存在したため、検出濃度の平均値では $0.55 \pm 0.27 \mu\text{g/l}$ となった。試料の調製の手順は問題なく、極端に濃度の低い試料が存在した理由は現時点では不明である。30日間放置後のPFOSは、各容器において $0.62 \sim 0.87 \mu\text{g/l}$ の範囲で存在していた。調査期間を通じて最も安定してPFOSが存在したのは汎用ポリプロピレン製容器であり、30日間放置後の検出濃度は最も高い値 $0.87 \pm 0.03 \mu\text{g/l}$ となった。また、標準偏差も比較した容器間では常に低い数字となっており、同一製品内におけるロット間の変動が少ない結果を示した。Fisher製、Iwaki製ポリプロピレン容器は、PFOS濃度が徐々に減少する傾向にあり、30日間経過した時点でも濃度の減少傾向は平衡に達していないように思われた。ガラス製容器は短期間であれば安定に保存可能に思うが、比較した容器間では最も標準偏差が大きく安定性に欠ける結果となった（表3）。

表3 PFOS標準溶液（溶媒：精製水）の保存性試験

濃度(ppb)	Fisher PP	Iwaki PP	汎用PP(50ml)	ガラスKD
2日目	0.88	0.86	1.06	0.88
	0.89	0.89	1.16	0.85
	0.77	0.96	0.99	0.98
	0.86	0.94	0.88	0.98
	0.86	0.94	1.04	0.94
10日目	0.76	1.00	0.91	1.14
	0.70	0.78	0.93	1.04
	0.70	0.81	0.91	0.73
	0.76	0.76	0.92	0.57
	0.61	0.79	0.92	0.90
20日目	0.75	0.78	0.90	0.17
	0.63	0.83	0.94	0.76
	0.61	0.76	0.92	0.64
	0.67	0.88	0.99	0.36
	0.60	0.75	0.89	0.81
30日目	0.50	0.62	0.85	0.52
	0.72	0.78	0.91	0.61
	0.66	0.72	0.90	0.62
	0.49	0.74	0.85	0.82
	0.74	0.63	0.84	0.58

・精製水/メタノールにおける保存性

保存溶媒に精製水/メタノール（1：1）を使用した際には、各容器および各期間を通じて検出されるPFOS濃度はほぼ $1 \mu\text{g/l}$ でありほとんど変化がなかった（表4）。保存溶媒に精製水を使用した場合よりも全体的に標準偏差は小さくなっており、いずれの容器でも調査した30日間以内であれば問題なく保存が可能であることが示唆された。

表4 PFOS標準溶液（溶媒：精製水/メタノール）の保存性試験

濃度(ppb)	Fisher PP	Iwaki PP	汎用PP(50ml)	ガラスKD
2日目	1.00	1.00	1.02	0.95
	0.95	1.03	1.00	1.00
	1.02	0.96	1.01	1.03
	1.00	1.00	1.00	1.00
	0.98	1.01	0.95	1.04
10日目	0.98	1.02	1.02	0.95
	0.97	0.99	0.93	1.03
	1.00	0.96	0.93	1.04
	0.94	0.98	0.98	0.95
	1.00	1.01	0.98	1.02
20日目	0.96	1.00	1.02	1.03
	0.95	0.84	0.89	0.99
	0.90	0.95	1.00	0.99
	1.05	0.99	0.99	0.93
	0.90	1.00	1.03	0.94
30日目	0.95	1.03	0.98	0.91
	1.05	0.87	0.88	0.94
	1.01	0.97	1.03	0.92
	0.91	0.99	1.00	1.02
	0.90	0.89	0.76	1.04

以上の検討から、PFOSの標準溶液を保存する場合には精製水よりも精製水とメタノールの混合溶媒が適していることがわかった。精製水のみで保存した際に放置期間とともに検出されるPFOS濃度が減少する要因は容器壁面への吸着作用と思われる。検討は密閉系で実施しており、容器内に3～5ml程度のデッドボリュームは存在するが基本的にPFOSが揮発し外部へ漏れることはなく、かつ精製水であることから微生物などによる生物分解もあり得ない。本特別研究における野馬らの報告によればUVランプの照射によりPFOSが分解されることが指摘されているため、光分解の可能性も想定されるが、野馬らの実験条件は通常の実験室内における紫外線量よりもはるかに強い条件であることから、本実験結果が光分解に起因するとの確証はない。一方、本検討は実際の夾雑物が存在しない状況下ではあるが、仮に実試料を分析する場合でも、PFOS前駆体物質による生物分解や光分解の

影響を避けるためにも、採水に使用した容器の種類（ポリプロピレン製あるいはガラス製容器）を問わず短期間で抽出までの工程は終わらせる必要があるものと推測される。

[容器からの溶出試験]

いずれの容器からも放置した期間に関係なくPFOSは全く検出されなかった。したがって、前処理の際に本検討で用いた容器類からのブランク値は最終濃縮量 1 ml までは測定値に影響を与えないものと判断される。

[固相カートリッジからの溶出試験]

OASIS HLB Plus, Sep-Pak Plus tC18はメタノール、アセトニトリルいずれの溶媒を通液させてもPFOSの溶出はなかった。Presep-C Agriはアセトニトリルを用いた際に通液の最初の 1 ml 画分に約30pgのPFOSが存在していた。Sep-Pak Plus PS2は検討したカートリッジの中では最も製品中のPFOS含量が多く、メタノールおよびアセトニトリルの両溶媒において通液の最初の 1 ml 画分に600~700pgのPFOSを含んでいた。ただし、いずれのカートリッジともメタノールあるいはアセトニトリル 3 ml を用いてコンディショニングを行えば使用には問題ないものと結論した（表5）。

表5 カートリッジからのPFOSブランク試験

含有量/pg	Presep-C	Sep-Pak tC18	Sep-Pak PS-2	Oasis HLB Plus
0-1ml	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	623 579 662	0.0 0.0 0.0
1-2ml	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	57 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0
2-3ml	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0
3-4ml	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0
4-5ml	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0
0-1ml	33 38 34	0.0 0.0 0.0	658 718 653	0.0 0.0 0.0
1-2ml	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	72 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0
2-3ml	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0
3-4ml	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0
4-5ml	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0	0.0 0.0 0.0

上段:メタノールにより溶出。下段:アセトニトリルによる溶出。
各カートリッジから溶出。濃縮乾燥後、水-メタノール混合溶媒(200 μl)を添加し、十分に攪拌した後測定。

[窒素濃縮過程における回収率試験]

ポリプロピレン製容器とガラス製容器で対照的な結果となった（表6）。ポリプロピレン製容器の場合には、メーカーや溶媒に関係なく窒素濃縮を行うことにより約50%のPFOSを回収できなかった。一方、ガラス製容器の場合にはメタノールにおいて92±5%、アセトンにおいて91±9%のPFOSが溶液中に存在していた。メタノールとアセトンはカートリッジからPFOSを溶出させる溶媒を対象として難揮発性溶媒および揮発性溶媒の代表とし

て用いている。窒素濃縮は揮散による回収率低下を防ぐため加熱のない穏やかな条件で行っており所要時間はアセトンで約10分、メタノールで約1時間要している。しかしながら、得られた結果は窒素濃縮の時間に依存せずむしろ容器の材質に関連していると思われることから、ポリプロピレン製容器とガラス製容器における回収率の違いは容器壁面へのPFOSの吸着性に起因するものと思われる。したがって、後述するモニタリング調査において最終濃縮操作である窒素濃縮の工程はガラス製容器を用いることとした。

表6 窒素濃縮試験

回収率(%)	FisherPP15ml 容器	IwakiPP15ml 容器	ガラスKD受器
メタノール	49	44	99
	46	51	95
	48	47	87
	47	43	88
	47	47	89
アセトン	52	49	95
	54	53	91
	59	54	103
	50	49	88
	51	48	80

PFOS STDを10ng (100ppbを100 μl)アセトン1 mlまたはメタノール1 mlに添加後、窒素バーンにより溶媒を乾燥。水-メタノール混合溶媒(1.1 ml)を加え定容し、Vortex(30秒間)および超音波振動(31 Hz, 15分間)後一部を採取して測定。

[固相カートリッジへの負荷pH試験]

OASIS HLB PlusおよびPresep-C Agriともに、試料水中のpHの増加とともに回収率も増加しており、約pH7においておよそ100%の回収率を示した。pH12付近までpHを増加させ検討を行ったが、図3、図4に示すようにpH7以上の高pH領域ではいずれのカートリッジも回収率に変化は見られなかった。

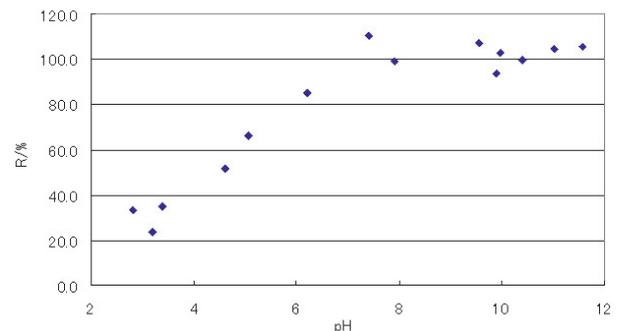


図3 OASIS HLB PlusにおけるpHと回収率

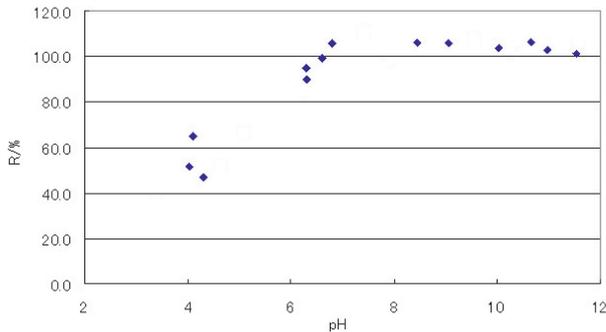


図4 Presep-C AgriにおけるpHと回収率

3) まとめ

分析のフローチャートおよびつくば市内で採水した小貝川試料水 1l を用いて行った添加回収試験の結果を図 5、表 7 以下に示す。なお、PFOA に関しては、PFOS と同様の操作で分析が可能と思われたため、添加回収試験は PFOS と同様の手順で行った。

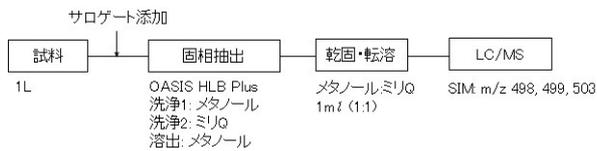


図5 PFOS分析フローチャート

表7 河川水への添加回収試験

	濃度/ng L ⁻¹		回収率/%	
	PFOS	PFOA	PFOS	PFOA
	1.83	3.51	89	103
	1.86	3.62	91	103
	1.93	3.66	87	96
	1.75	3.4	90	105
	1.84	3.52	91	99
算術平均	1.842	3.542	90	101
SD	0.065	0.102	1.60	3.58
C.V./%	3.5	2.9	1.8	3.5

(2) PFOS等の環境水中レベル

1) 都下主要河川

都内の水環境に関してPFOS汚染の現状把握を行うため2004年8月に主要河川（江戸川水系、荒川水系、隅田川水系、神田川水系、多摩川水系）にて採水を実施し、上記の分析法を用いてLC/MSによる測定を行った。調査

地点は全24地点（図6）であり、分析に利用した試料量は各1lであった。

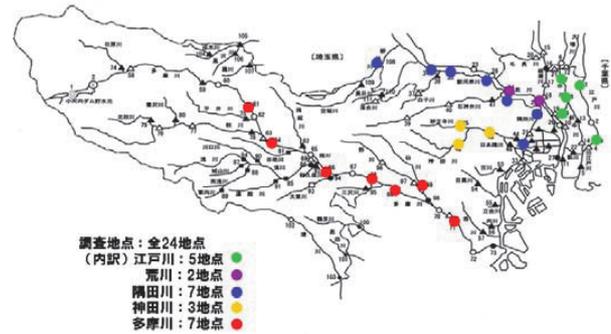


図6 都内主要河川における調査地点

調査地点におけるPFOSの平均濃度は、0.5~58ng/lの範囲であった。およその濃度傾向として江戸川水系（0.9~20ng/l）や荒川水系（2.8および8.3ng/l）は低く、多摩川中流部（9.2~58ng/l）や隅田川水系（21~51ng/l）はそれよりも高濃度を示していた（図7）。全地点を対象として最高濃度地点、最低濃度地点はともに多摩川水系の多摩大橋（中流域）と羽村堰（上流域）であった。すなわち、多摩川水系においては上流域から中流域にかけて単純比較するならばPFOS濃度が100倍増加しており、この事実は途中何らかの発生源あるいはPFOSの流入があったことを示唆している。そこで、我々はこの要因として下水処理場からの放流水に着目した。下水処理場は家庭排水、工場排水に含まれる化学物質のシンクであり、通常はろ過や凝集沈殿、活性汚泥などを併用し処理を行っているが、水溶性に富み、なおかつ難分解性であるPFOSはこれら従来の処理法では除去できない可能性が考えられる。つまり、処理場に流入したPFOSがそのまま河川へ放流されているものと推測された。

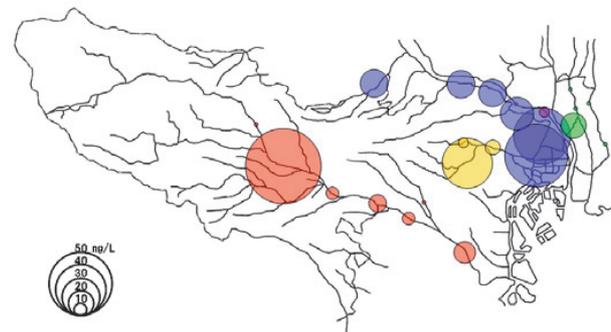


図7 都内主要河川におけるPFOS濃度結果

2) 下水処理場

多摩川水系の下水処理場放流口近くで比較的高い測定結果が得られたことをうけ、多摩川中流域にある下水処理場AならびにAと同程度の処理能力(250,000~300,000 m³)を有し、別の比較的高濃度な地点の上流に位置する東京都区内の下水処理場Bを対象として下水処理過程におけるPFOS濃度の調査を実施した。

下水試料の場合には、試料水に固形物や懸濁物が多量に含まれているため、試料中のPFOSは溶存態(孔径2μm, φ90mmのガラス繊維ろ紙を通過した溶液中のPFOS)と懸濁態(ガラス繊維に捕集された固形物、懸濁物に吸着しているPFOS)として別々に測定を行うこととした。試料水量は500m^lとして固相カートリッジへの通水前にガラス繊維ろ紙でろ過を行った。捕集された固形物、懸濁物はデシケーターにて乾燥後、メタノールを用いた高速溶媒抽出により抽出操作を行い、定容後、前処理なしで直接LC/MSにて測定を行った。一方、溶存態の分析は溶液を固相カートリッジに通水させてメタノールによる溶出後、LC/MSにて測定した(図8)。

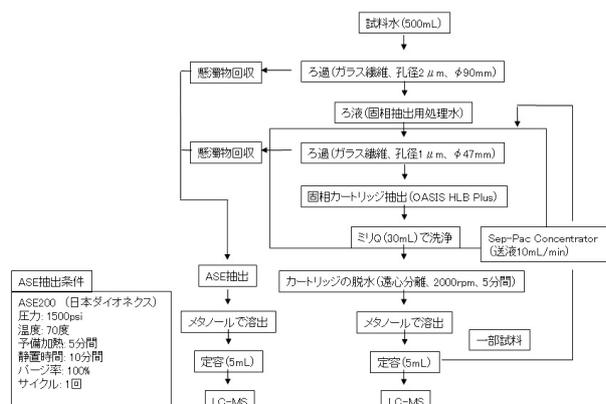


図8 下水処理水の分析フローチャート

はじめに下水処理場Aにおける2005年1月から5月までの結果を示す(図9)。試料水には1時間間隔で24回自動採水を実施したコンポジット試料を用いており、第一沈殿池入口(流入水)、第一沈殿池出口(沈殿水)および放流口(放流水)にて試料を採取した。これを見ると、多少の変動はあるが基本的には流入水中のPFOS濃度は沈殿水中の濃度と同程度であり、放流水中の濃度がそれら濃度を若干下回るように推移していた。流入水、沈殿水、放流水の総濃度(溶存態PFOS濃度と懸濁態PFOS濃度(沈殿の重量ではなく、ろ過前の水の体積あたりの濃度で表している)の和)として比較すると、5月を除い

て「流入水=沈殿水(約1000ng/l) > 放流水(500~1000 ng/l)」となっていた。また、総濃度に占める溶存態PFOS濃度の割合は、流入水において78~92%、第一沈殿水において85~93%、放流水において71~95%となっていた。これはPOPsなど水中の懸濁物に吸着しやすい他の有機化学物質の挙動とは異なり、水溶性の高いPFOSの物性を反映している結果と思われた。さらにこの結果は、先に指摘したように従来の処理法ではPFOSを十分に除去することができず、流入したPFOSがほぼ直接的に河川等へ放流されている事実を裏付けている。ただし、用いた試料はコンポジット試料であることから、各処理過程におけるPFOS濃度の時間変動の可能性は十分に考えられる。

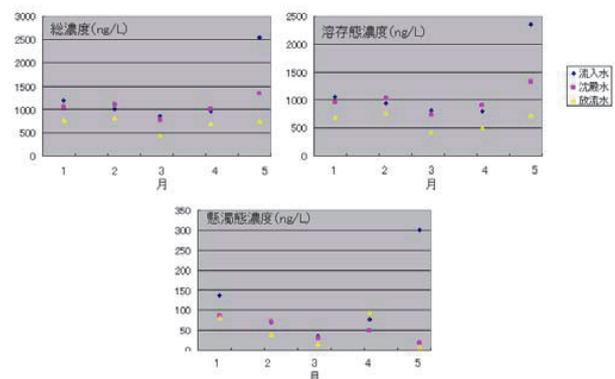


図9 下水処理場Aにおける分析結果

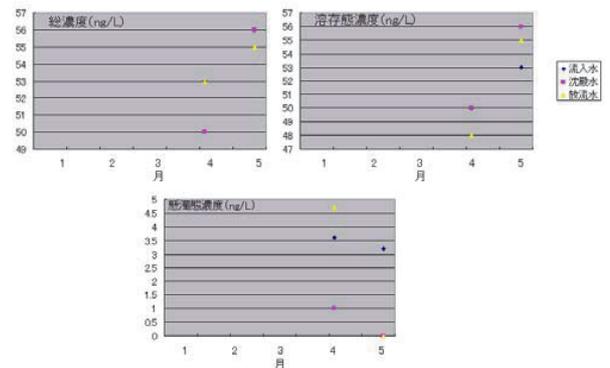


図10 下水処理場Bにおける分析結果

次に下水処理場Bにおける2005年4月および5月の結果を示す(図10)。試料水には同じくコンポジット試料を用いている。下水処理場Bの各過程から検出されるPFOS濃度は下水処理場Aよりもかなり低い値(総濃度として50~60ng/l)を示した。しかしながら、下水処理場Bの流入水と放流水中の濃度を比較するとほとんど変化がないことから、下水処理場Aと同様にBにおいても

処理過程においてPFOSは除去されないことがわかった。従って、下水処理場AとBにおける沈殿水ならびに放流水中のPFOS濃度は、各処理場の流入水中のPFOS濃度、すなわち、処理区域内の廃水に含まれているPFOS濃度に依存していると推測された。

3) 多摩川流域

2004年の調査で比較的高濃度の地点を有した多摩川を対象として2005年11月2日（第1回サンプリング）と11月15日（第2回サンプリング）に再度採水を実施した。採水は多摩川の本流、支流ならびに下水処理場の放流口を含む全21地点（上流は永田橋、下流は調布取水所に至る全長約35km）であった（図11）。

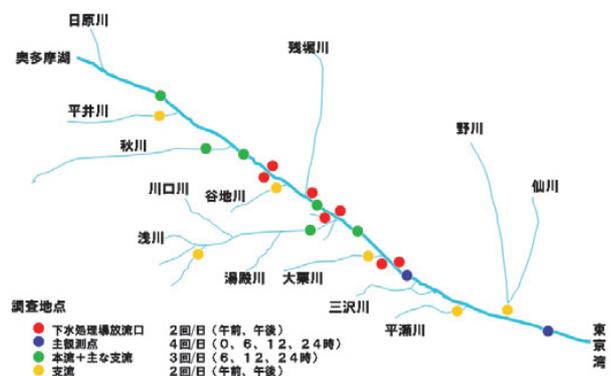


図11 多摩川における調査地点

検出された濃度は以下の通りであった（表8）。第1回サンプリングと第2回サンプリングにおいて検出されたPFOSとPFOAの濃度検出値はほぼ同じであり、地点間における濃度差もほぼ同程度であった。下水処理場C（=A）の放流水はPFOS濃度が突出して高い反面、PFOA濃度は10ng/l程度と低い値を示した。対照的に下水処理場DはPFOS濃度が40~60ng/lである一方で、PFOA濃度は200 ng/L程度と高濃度を示した。多摩川中流部は下水処理場が密集しているが、その上流部に相当する拝島原水や永田橋の値はPFOSおよびPFOAともに1 ng/l以下であることから、これら有機フッ素化合物による多摩川の汚染は少なくとも家庭排水や工場排水など人的活動に伴ったものであると考えられる。下水処理場における放流水は、流入水とはほぼ同等のPFOSおよびPFOAを含むものと想定されることから、各処理場の放流水におけるPFOS濃度とPFOA濃度の比率は汚染の寄与源の違いを表しているように思われる。さらに、各下水処理場における多摩川への放水量に基づき1日あたりのPFOSおよ

びPFOA負荷量を表9にまとめた。その結果、下水処理場Cは40~45g、下水処理場DとIは3~5g、その他の下水処理場は約1gのPFOSを排出していることがわかった。多摩川本流の調査地点において最下流地点にあたる調布取水所におけるPFOS量は約120gであり、これは多摩川から東京湾への1日あたりのPFOS負荷量と読み替えることができる。したがって、調査した下水処理場C~Iまでの総量は東京湾へのPFOS負荷量の約半分を占めており、下水処理場がPFOSに関しても重要なソースであることを示唆していた。同様の傾向はPFOAについても言えるが、多摩川による東京湾へのPFOA負荷量はPFOS負荷量の1/3~1/4であった。また、PFOSに関しては下水処理場Cが、PFOAに関しては下水処理場Dの寄与が大きかったという傾向は、これら化合物の特異的な汚染源を区域内に有しているものと推定され、このような汚染源に対して効果的な対策を施すことが可能であれば、PFOSやPFOAによる汚染はかなりの部分を抑えることができるものと思われる。

表8 多摩川流域におけるPFOSおよびPFOA濃度

地点名	採水時刻	第1回サンプリング		第2回サンプリング	
		PFOS	PFOA	PFOS	PFOA
永田橋	6:00	0.3	0.2	0.4	0.4
	12:00	0.5	0.4	0.3	0.3
	18:00	0.3	0.3	0.2	0.2
多西橋	7:50	1.0	1.2	1.0	1.2
	13:05	1.7	1.8	1.1	1.5
東秋川橋	6:00	2.8	0.4	0.2	0.4
	12:00	0.8	0.4	0.4	0.4
	6:00	1.5	1.2	0.6	0.7
拝島原水	12:00	1.1	1.0	0.9	0.8
	18:00	1.8	1.6	0.9	0.8
	7:55	416.3	12.0	368.3	12.7
下水処理場C	13:25	410.5	11.7	361.1	13.1
	8:55	62.9	188.3	38.4	174.1
新旭橋	14:05	53.7	189.0	42.8	168.7
	9:10	9.6	4.6	13.4	6.5
	14:00	16.8	5.3	14.4	6.2
日野橋	6:00	97.5	24.1	123.4	31.3
	12:00	110.1	25.1	111.5	26.1
	18:00	108.9	28.7	101.6	30.5
下水処理場E	8:05	25.3	15.0	26.0	9.6
	13:45	33.1	15.0	25.2	10.0
	10:05	5.5	10.5	5.1	8.3
下水処理場F	15:15	5.4	10.4	4.5	7.5

表8 多摩川流域におけるPFOSおよびPFOA濃度 (続)

地点名	採水時刻	第1回サンプリング		第2回サンプリング	
		濃度 (ng/l)		濃度 (ng/l)	
		PFOS	PFOA	PFOS	PFOA
下水処理場G	9:00	27.1	19.7	14.9	11.7
	14:10	25.4	18.3	15.9	12.1
高樺橋	6:00	24.8	6.7	23.7	10.1
	12:00	31.2	7.0	22.6	13.4
	18:00	25.3	6.9	22.6	15.2
橋川橋	7:55	3.0	1.0	3.7	1.0
	13:30	3.7	0.8	3.8	1.1
関戸橋	6:00	62.1	15.0	76.8	19.1
	12:00	64.8	16.7	68.9	19.6
報恩橋	18:00	66.9	19.3	66.0	19.3
	8:45	6.1	6.4	7.5	5.8
下水処理場H	13:50	6.6	6.2	6.8	6.0
	8:24	8.2	11.9	9.4	11.6
下水処理場I	14:12	9.3	12.4	6.7	7.7
	7:16	25.1	29.2	17.8	11.1
多摩川原橋	13:24	27.4	26.2	18.7	10.5
	0:00	52.4	18.8	45.5	14.3
平瀬橋	6:00	56.4	17.8	48.4	14.1
	12:00	49.9	17.5	48.8	14.2
	18:00	46.7	15.9	47.7	14.8
兵庫橋	8:10	32.0	10.9	26.6	10.3
	13:35	27.8	8.2	27.0	9.0
調布取水所	6:35	11.9	5.2	8.0	4.9
	12:30	10.7	5.0	10.8	4.8
調布取水所	0:00	37.8	10.8	35.4	11.8
	6:00	37.3	12.0	40.0	11.1
	12:00	44.1	16.3	39.9	12.5
	18:00	44.7	16.0	38.4	12.3

表9 多摩川流域下水処理場におけるPFOSおよびPFOA負荷量

地点名	第1回サンプリング		第2回サンプリング	
	1日の負荷量 (g/day)		1日の負荷量 (g/day)	
	PFOS	PFOA	PFOS	PFOA
下水処理場C	45	1.3	40	1.4
下水処理場D	4.3	14.3	3.1	13
下水処理場E	1.4	0.7	1.3	0.5
下水処理場F	0.4	0.7	0.3	0.5
下水処理場G	1.5	1.1	0.9	0.7
下水処理場H	0.9	1.2	0.8	0.9
下水処理場I	4.8	5.0	3.3	2.0
調布取水所	124	43	122	36

4) 石川県沿岸域

全国沿岸の二枚貝調査(後述)で北陸に比較的高い地点が認められたため、2006年1月に石川県沿岸および主要河川下流域(犀川水系、手取川水系、梯川水系、大聖寺川水系)の全23地点(図12)にて採水を実施しPFOSおよびPFOAの測定を行った。PFOAの回収率、ブランクとも問題なく分析が可能であることを確認している。採水地点の内訳は、日本海沿岸(4地点)、下水処理場の放流口(6地点)および河川(10地点)であり、分析に利用した試料量は各1lであった。

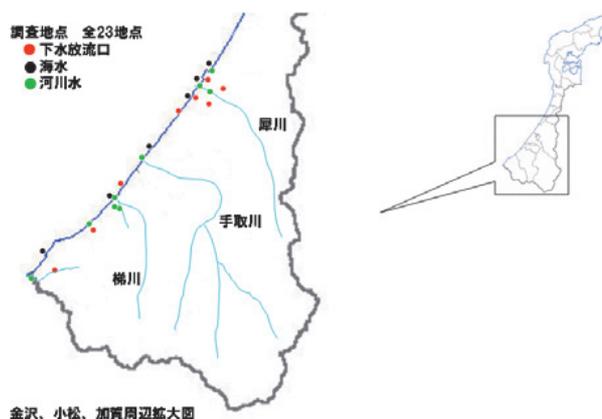


図12 石川県金沢周辺における調査地点

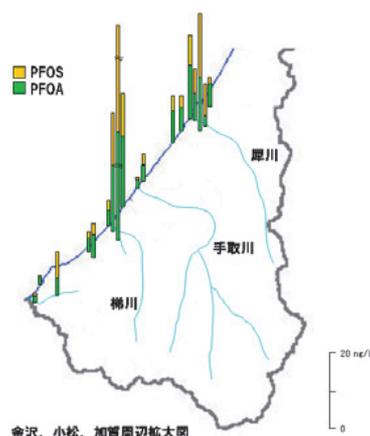


図13 石川県金沢周辺におけるPFOSおよびPFOA濃度

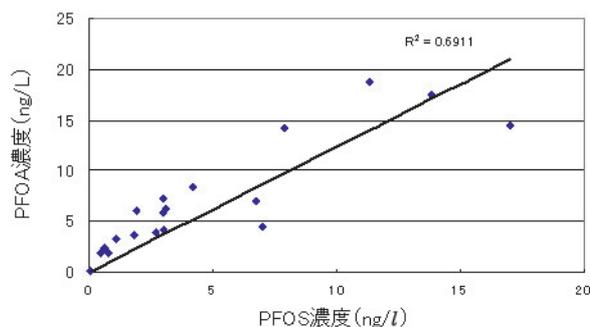


図14 PFOS濃度とPFOA濃度の相関

図13, 図14に結果を示す。PFOS濃度は沿岸水で<0.05~3.1ng/l, 放流水で3.0~17ng/l, 河川水で0.8~320ng/lを示した。これらの濃度範囲は、特段に高かった地点を除くと香港(沿岸海水:PFOS 0.09~3.1ng/l, PFOA 0.73~5.5ng/l)や中国(南シナ海:PFOS 0.02~12ng/l, PFOA 0.24~16ng/l)から報告された文献値とほぼ同レベルであった。また検出されたPFOSとPFOAの濃度間での相関係数は、PFOSおよびPFOAともに最高濃度を示した地点を除いた場合、 $R^2 = 0.69$ となった。各水系の

特徴は明確には現れず、各地点におけるおよその傾向はPFOS濃度がPFOS濃度を若干上回っていた。また沿岸における採水地点に関しては緯度によるPFOS/PFOA比にも明らかな違いはなかった。

(3) まとめ

LCMSを基礎として、カートリッジカラム処理を組み合わせながら環境水並びに下水道処理場水中のPFOS、PFOAの採取、分析条件を確立し、東京都下の河川水並びに下水道処理場流入水、処理水の測定を行った。都内の主要河川のスクリーニングの結果、多摩川中流域に比較的高い地点が見つかったため、その直上の下水処理場を調べたところ、1000ng/lの桁のPFOSが下水として流入していることを見いだした。PFOSの大部分は沈殿ではなくろ過水側に存在していた。また、濃度の低い別の下水処理場と比較しながら流入水と放出水の測定を行ったが、いずれの場合でも通常の下水処理によってPFOSを効率よく除くことはできないことが示された。多摩川の流域調査を行った結果、この処理場から放出されるPFOSが多摩川から東京湾に負荷されるPFOSの1/3程度を占めることがわかった。一方、類縁化合物であるPFOAは別の処理場からの排出が主体であることがわかり、これらの使用形態、排出源の違いが示された。二枚貝を用いた全国調査（後述）で見つかった石川県沿岸の高濃度地点周辺の河川水、下水道処理水の調査も行ったところ、都下河川水の測定結果の最高濃度に匹敵する地点が見つかった。

これまでの文献情報等によれば、PFOSは極めて多様な使用形態、使用目的を有しており、その水系への排出源も様々なものが想定される。各排出源からの排出量を推定できる情報が見つからなかったため、今回の研究では大都会の東京を選んで実際の河川水、下水処理水などを測定し、大きな排出源の探索を試みた。最大手の製造元はすでに2002年に製造を中止しているはずで、本研究では減少の様子を見つづ過去の主要な発生源を推測する難しい作業になることを予期していたが、実際には研究継続期間中、大きな発生源が存在し続けていた。採水手続きなどに時間を要したために、研究期間中にこの発生源を具体的に突き止めるにはいたらなかったが、流入する下水の主要幹線の採水と分析を共同研究で継続しており、今後排出源の確認を進めたいと考えている。また、他の地方でも同様の濃度レベルの排出源が見つかってお

り、どのような業種、あるいは発生源が残っているのか、今後の研究課題と考えられる。

PFOSについては現在の一般的な下水処理技術でうまく除去できていないことが、今回の研究から明らかになった。米国EPAから公表された3Mの資料を読むと、炭素処理（恐らく活性炭のことではないかと思われる）で効率的に除去できるようだが、詳細についてはわからない。PFOSについては大部分の用途は代替品に移行しつつあるようであるが、一部の業種では代替がきかず、こうした少数の用途がしばらく残るのではないかと今回見つかった目立つ発生源はこれらの現れではないかと懸念される。PFOSについては、現在ストックホルム条約の追加対象物質候補として審議が行われており、規制強化の流れの中で対策もより強化していく必要がある。その場合、処理場に流れ込んでからでなく、できるだけ発生源で排出しない、除去できる実用的処理技術の確立が急がれる。

謝辞：本環境調査を実施するにあたり、東京都環境科学研究所、東京都環境局、東京都下水道局、環境省の多大な協力を得た。ここに厚く謝意を表する。

2.1.3 二枚貝を用いた全国の沿岸汚染調査

一般環境水に流れ出したPFOS並びに類縁有機フッ素界面活性剤は、そのまま河川を流れ下って沿岸域に到達し、周囲の汚染を引き起こすことが推測される。水中濃度は一般に低く、しかも時間的変動の大きいことが予測されるために、広域的な汚染の現状を把握する試料として必ずしも最適とはいえない。ここでは生物による濃縮、並びに濃度変動の平滑化の効果を期待して、二枚貝を用いた沿岸のPFOS並びに関連化合物の汚染状況の把握を試みた。

二枚貝、特にイガイ科の仲間は世界の温帯、亜寒帯域の沿岸に広く分布しており、これらを使った海洋沿岸汚染モニタリング（Mussel Watchと称される）が世界各地で活発に行われている。日本においても、環境省が行っている化学物質環境実態調査において、1978年から現在まで地点を定めて採取、分析が継続されており、また国立環境研究所でも特別研究の一環として、あるいは環境モニタリングのための保存試料として、これまで収集、分析が続けられてきた。世界的に広く分布し最もよく使

われるのはムラサキイガイ *Mytilus edulis* であるが、厳密にはこの種は日本にはいないとされる。日本沿岸にいるのは、北海道以北に以前から棲息している *M. trussus* と、1930年頃に恐らく船底に付着して海外から移入してきた *M. galloprovincialis* (地中海イガイ) が最も近い仲間である。他に類縁種として、潮間帯より深いところに棲息する *M. corseum* (イガイ)、外洋に面した比較的波が荒く栄養の少ない潮間帯を好むムラサキイガイ *Septifer virgatus*、それに近年東南アジア方面から大都市周辺に移入してきている熱帯産のミドリイガイ *Perna viridis* などがいる。これらは生物学的に同じ科に属する近縁種で、他の汚染物質の濃縮傾向が類似しており、またこれらを組み合わせることで日本の沿岸を地域的に広くカバーできることから、本研究においてもこれらを主たる対象としてPFOSその他パーフルオロアルキルカルボン酸類の測定を行うことを目標とし、そのための手法開発、確立に取り組んだ。

以下、前処理方法、分析方法の検討と確立、PFOS、PFOAの日本沿岸域汚染状況調査結果、そして特徴的な地点における炭素数の異なるパーフルオロアルキルカルボン酸濃度の測定について記載する。生物試料の場合、一般環境水や下水と比較して様々な有機物を夾雑物として含み、これらが測定に当たって大きな妨害要因となる。二枚貝に関する測定はほとんど報告がないが、これは前処理、測定が煩雑で妨害を受けやすいことに加え、食物網の比較的低位にいるために生物濃縮もあまり進んでおらず、相対的に濃度レベルが低いことを反映しているものと予想された。本研究では、特に精度管理に気を配りつつ、(1) 高い抽出率の確保、(2) 前処理による夾雑物の除去、(3) LC/MSMSをベースとする高選択性の分析手法の確立、(4) バックグラウンドの低減と再現性の向上、に留意して分析法開発を進めた。

(1) 実験条件

[試薬]

標準物質：Perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) potassium salt (ABCR社製:98%)、Perfluorooctanoic acid (PFOA) (ABCR社製:98%)、Perfluorononanoic acid (PFNA) (Wellington社製)、Perfluorodecanoic acid (PFDA) (Aldrich社製:98%)、Perfluoroundecanoic acid (PFuDA) (Aldrich社製:95%)、Perfluorododecanoic acid (PFdDA) (Aldrich社製:95%) を用いた。

安定同位体ラベル標準物質：Sodium perfluoro-1-[1,2,3,4-¹³C₄] octane sulfonate, Perfluoro-n-[1,2,3,4-¹³C₄] octanoic acid, Perfluoro-n-[1,2-¹³C₂] decanoic acid, Perfluoro-n-[1,2-¹³C₂] dodecanoic acid (いずれもWellington社製) を用いた。

標準液：約100mgの上記標準物質を正確に秤量し、精製水/メタノール(3:7) 1,000mlに溶解し原液とした。この原液を精製水/メタノール(3:7)を用いて適宜希釈させて0.1μg/lから100μg/lの標準液を調製した。

メタノール：和光純薬工業製のHPLC用を用いた。

アセトニトリル：和光純薬工業製のHPLC用を用いた。

酢酸アンモニウム：ニッポンジーン製の10M酢酸アンモニウムを用いた。

精製水：ミリポア製Milli-Q超純水装置にて処理したものを用いた。

固相カートリッジ：Chem-Elut (バリアン社製)

その他：用いた試薬は和光純薬工業、関東化学製の特級ないしLCMSグレードのもので、さらなる精製等を行わずそのまま分析に供した。

[分析条件]

LCはAgilent社製1100シリーズ、MSMSはApplied Biosystems社製API4000 QTRAPシリーズを用いた。カラムはZorbax XDB C18を用い、表10、表11に示す条件で測定を実施した。

表10 LC条件

HPLC			
Instrument	Agilent 1100		
Column	Zorbax XDB C-18 (2.1 × 150mm, 3.5 μm)		
	Zorbax XDB C-8 (2.1 × 12.5mm, 5 μm)		
Mobile Phase	A: Water (10mM CH ₃ COONH ₄)		
	B: CH ₃ CN		
Gradient schedule	Time	A (%)	B (%)
	0	60	40
	15	0	100
	20	0	100
Flow rate	200 μl/min		
Column temp	40 °C		
Injection Volume	10 μl		

表11 MSMS分析条件

MSMS	Peak Name	Analyte mass ranges		DP (V)	CE (V)	
		Precursor	Product			
		<small>DP : Declustering Potential CE : Collision Energy</small>				
Instrument	API4000 QTRAP (Applied Biosystems)	PFOA	413	369	-35	-16
		PFOA (¹³ C ₄)	417	372	-35	-20
Ionization	ESI	PFNA	463	419	-30	-16
Polarity	Negative	PFDA	513	469	-30	-18
Ionspray voltage (V)	-4500	PFDA (¹³ C ₂)	515	470	-30	-18
Nebulizer gas (psi)	40	PFOS	499	80	-105	-86
Turbo gas (psi)	80	PFOS (¹³ C ₄)	503	80	-105	-86
Temperature (°C)	400	PFuDA	563	519	-45	-18
		PFdDA	613	569	-50	-18
		PFdDA(¹³ C ₂)	615	570	-50	-18

基礎検討

[操作ブランク低減のための検討]

試料を加えずに前処理操作を実施し、操作ブランクレベルを確認した。さらに前処理をいくつかのステップに分けてそれぞれでブランクを確認し、どの操作がブランク低減に寄与するかを確認するとともに、主な試薬溶液、容器類、固相抽出カートリッジなどについてメチルターシャリーブチルエーテル (MTBE) 洗浄、あるいは水抽出などを行い、それぞれのPFOS、PFOAのブランクレベルを確認した。

[前処理条件の検討並びに確立された条件]

文献、並びに環境省で検討、作製したPFOSの分析法を参考に、いくつかの条件を検討した。抽出条件については、文献にある緩衝液中でのホモジナイズ法の他、沸点を超えた温度の有機溶媒を加圧しながら試料容器に入れ抽出を行う加圧溶液抽出法 (Pressurized Fluid Extraction (PFE) : ダイオネクス社製ASE200を使用)、多環芳香族炭化水素等安定性の高い化合物の分析に古くから使われているアルカリ分解法を選んだ。それぞれ標準溶液を既知量添加し、添加回収試験を行って見かけの回収率を確認した他、凍結粉碎均質化を行った同一試料を別々の方法で処理して相互のデータを比較し、絶対的な抽出効率の差を確認した。

以下、アルカリ分解法 (最適分析条件)、並びにPFE法 (PFOA等の存在状態解析のための実験条件) を記す。

<アルカリ分解法>

試料を2N NaOHで90度3時間加温分解した後、中和して炭酸ナトリウム溶液中でテトラブチルアンモニウムとイオン対を作らせ、MTBEで2回抽出する。MTBE層を合わせ、減圧乾固後ヘキサンに溶かし、Chem-Elutに流した後5%含水アセトニトリルで溶出する。減圧乾固後

アセトニトリル水溶液 (水:アセトニトリル=6:4) 1 mlに溶解してフィルターでろ過し、LC/MSMSで分析を行った。

<PFE法>

試料を無水硫酸ナトリウムとよく混ぜてから抽出容器に入れ、洗浄済みのガラスビーズで隙間を埋めてPFEで抽出する。抽出液に炭酸ナトリウム溶液とTBAを加えてMTBE抽出を行い、以後Chem-Elut処理、アセトン水溶液溶解、フィルターろ過をアルカリ分解と同様に行って、LC/MSMSで測定する。

[試料の採取と処理]

二枚貝試料は全国各地の沿岸で採取した。一部の試料については、採取後凍結して冷凍の宅配便で研究所に運び、その後解凍してステンレス製のホモジナイザーで温度を上げないように注意しながら摩砕し、分取して分析に供した。なお、ホモジナイザーのシャフトについては、フッ素樹脂を使用していないものを確認して使っている。残りの試料は採取後すぐに現場で貝剥きを行い、身を取り出した後、液体窒素で凍結して研究所に持ち帰った。その後、凍結状態のままチタン製またはステンレス製の容器内で押しつぶして2, 3 mm角以下のサイズに粗粉砕し、さらにジルコニアあるいはチタン製の遊星ボールミルで数十ミクロン以下のサイズに微粉砕を行った。凍結状態のままふるいでこして粗大粒子を除いたあと、よく混ぜてからガラスビンに小分けし、使用時まで冷凍状態で保存した。

(2) 結果並びに考察

1) 操作ブランクの低減

これまでの報告から、PFOS等の有機フッ素系界面活性剤の濃度は食物網低位の生物では一般に低いことが示されている。特にPFOAでは1桁台の生物濃縮係数が報告にあり、食物網で低位に属する二枚貝の分析には、高感度かつブランクレベルの低い分析条件の確立が研究推進にとって必須の条件と考えられる。一方、PFOSは極めて多様な使用形態があり、汚染のチャンスも多い。また、PFOAはテフロンなどフッ素系高分子の重合反応に乳化剤として使われた経緯から、通常の化学実験室内での汚染のチャンスの多い物質と考えられ、その操作ブランクレベルの低減が大きな課題となった。

初期の段階では、目で見てテフロンなどフッ素樹脂と

判断されるものはできるだけ作業手順から排除した。また、実際の作業工程にそって確認作業を行った結果、ブランクレベルが上がることからフッ素樹脂の使用に気づいた例もある（溶液採取用のガラス製ディスペンサーの内部配管にフッ素樹脂が使われていた例など）。さらに使用する試薬などをチェックした結果、特に炭酸ナトリウム溶液とTBA溶液のブランクレベルが高いことがわかった。これらは事前にMTBEを加えてよく振り、有機溶媒層を除くことで、PFOA等のブランクレベルを効果的に削減できることがわかった。また、固相カートリッジカラム（Chem-Elut）もブランクの押し上げにきいていることがわかったが、有機溶媒洗浄後、乾燥させる際に再度のコンタミがおきやすく、それを防ぐためには高純度の窒素ガスを必要とするなど面倒かつ高価につくことから、前洗浄を見送ってそのまま使用することとした。ここまで検討した後でも、時々一過性にPFOAのブランクレベルの上昇が見られることがあり、前処理工程をさらに検討したところ、シリコンゴム製のスポイトや実験室で使っていた上履き、マイクロピペットの本体（プラスチック製）、固相抽出カートリッジ用マニホールドのパーツなど、予想外のところにもPFOAの高いものが見つかった。これらはいずれもフッ素樹脂ではないが、一般に高分子やゴム製品を金型で生産する際に型からはずれやすくするための離型剤としてこれらの有機フッ素系界面活性剤が使われるとされており、そのためではないかと考えられる。さらに、実試料の測定を始めた後に次第にブランクレベルが上昇する傾向が見つかり、精査した結果、減圧濃縮に用いるガラス製ナシフラスコの内壁が次第によごれ、有機溶媒洗浄ではきれいにしきれないためとわかった。そのため、定期的に濃硫酸によるガラス器具の洗浄操作を行うこととした。なお、PFOAと比較してPFOSの混入は大概無視できるレベルであった。

以上の操作ブランク低減作業の結果、1回の前処理操作で加わってくるブランクをPFOSで0.02ng、PFOAで0.1ngまで低減することができ、2gの試料から出発した場合の検出下限（MDL：Method Detection Limit、並びにMQL：Method Quantification Limit）を表12にまとめる低いレベルに抑えることができるようになった。

表12 分析手法としての検出下限（MDL）及び定量下限（MQL）*

	MDL (ng g ⁻¹)	MQL (ng g ⁻¹)
PFOS	0.016	0.054
PFOA	0.037	0.12

* 試料 2 g（湿重量）から出発した場合

2) 抽出方法の最適化とアルカリ分解法の採用

PFOSの生物試料からの抽出方法としては、対イオンを加えた緩衝液中でのホモジナイズ／有機溶媒抽出法が報告されており、これまでに報告された生物組織のデータはほとんどこの方法で得られている。報告されている添加回収試験も良好であり、データ上特段の問題は認められなかったが、今回の研究を推進するにあたって再度抽出条件を見直し、最適化することを考えた。

一般に水を多く含む複雑な内部構造と多様な有機物を含む生物試料から有機溶媒を使って有機汚染物質を抽出するには、いくつかの注意が必要となる。生物体は様々な膜系などで細かいコンパートメントに区切られており、それぞれ水溶液で満たされている。有機溶媒で効率よく抽出するためには区画をできるだけ細かく破壊して物理的な障壁を取り除き、有機溶媒も細かく分散させて水に溶けたり組織片に吸着したりする目的物質と触れて抽出する機会をできるだけ多くすることが必要となる。さらに、目的物質が化学的に生体成分と相互作用している場合があれば、その化学結合を切ってやる必要も出てくる。抽出条件としては、溶媒とのホモジナイズは比較的マイルドな条件になり、効率も必ずしも高いとは限らない。より強く、抽出率も高まることが期待される方法として、加圧液体抽出法PFEがある。化学的に安定な化合物に対しては、さらに組織を強アルカリ中で煮て完全に溶解し、有機溶媒などに抽出する方法（アルカリ分解法）が古くから使われており、原理的に最も高い抽出効率が期待される。一方、より強い、効率のよい抽出方法をとるほど分析を妨害する夾雑物の抽出も高まり、それだけ面倒な前処理操作を必要とすることになる。従って、実際の抽出にあたっては、対象物質を効率的に抽出できる手法の中で、できるだけマイルドな条件を選ぶのが適当ということになる。

どのようにして抽出率の高さを評価するかも、抽出法の検討の中で重要な課題である。一般には既知濃度の標

準物質を抽出時に外部から添加し、抽出、前処理操作後にどれだけ回収できたかを確かめることで手法の確かさを評価することが多い（標準添加法）。同じ考え方として、安定同位体ラベルを添加してから抽出し、最後の分析時に同位体比測定で前処理段階の効率を補正するとともに、同位体ラベル化合物の測定結果から当初加えた濃度を勘案して回収率を求めることも一般に行われている。しかしながら、水試料など単純な試料の場合は別として、生物試料のように複雑な構造をもつ試料の場合、組織内、あるいは細胞内に物理的、あるいは化学的に隔離された状態にある物質を完全に抽出できているかどうかの判断に、これらの後から加えた標準物質の回収率は必ずしも使えないことに留意する必要がある。ここでは、従来のホモジナイズ法に加えてPFE法とアルカリ分解法を同じ試料に適用し、結果を比較して抽出効率を判断することにした。

表13 二枚貝試料からの抽出効率の比較

	PFOA (n=3)		PFOS (n=3)	
	Recovery (%)	Concentration (ng g ⁻¹ -wet)	Recovery (%)	Concentration (ng g ⁻¹ -wet)
(1) Alkaline + ion-pair	101 ± 2	10.5 ± 0.2	86 ± 1	0.63 ± 0.01
(2) ion-pair	94 ± 19	1.3 ± 0.1	119 ± 1	0.16 ± 0.00
(3) PFE + Alkaline + ion-pair	86 ± 3	5.8 ± 0.4	71 ± 40	0.68 ± 0.02
(4) PFE + ion-pair	71 ± 16	2.6 ± 0.1	87 ± 4	0.17 ± 0.01

結果を表13にまとめる。いずれの抽出条件でも、抽出時に加えた安定同位体ラベル標準物質の添加回収率は良好で、70~120%の範囲に収まった。なお、LC/MSMSにおいては夾雑物によるイオン化の阻害あるいは促進が起こりやすいことが知られており、上記の回収率の値は十分良い結果と判断できる。一方、試料から抽出、検出された濃度（Concentrationと書かれた値）は方法によって大きく異なることが明らかとなった。文献にあるホモジナイズ/イオン対抽出法（2）とアルカリ分解/イオン対抽出法（1）の間にはPFOAで8倍、PFOSでも4倍の開きが認められ、二枚貝試料の場合、単純なホモジナイズでは試料中の総濃度をきちんと把握できないことが示された。

さらに、加圧液体抽出法PFEの結果からおもしろいことがわかった。表13にあるように、PFE抽出とイオン対抽出を組み合わせた場合には、PFOS、PFOAいずれの場合もホモジナイズ/イオン対抽出法（2）と同程度の低濃度しか検出できないのに対し、PFE抽出した溶液に

アルカリを加えて熱処理してからイオン対抽出を行う（3）の条件では、PFOSもPFOAもホモジナイズ法（2）の約4倍に増加し、特にPFOSは組織ごとアルカリ処理した場合（1）と変わらない。このことは、PFE法の抽出効率が潜在的に高いことを示すとともに、二枚貝中にアルカリ分解して初めてフリーのPFOSやPFOAになるような、別の化学的形態でこれらの物質が存在していることを示す結果と解釈することができる。さらにPFOAについては、PFEでも容易に抽出できないような、別の形の形態でも組織中に存在していることを示していると考えられる。これらがどのような化学的構造のものかははっきりしないが、例えばPFOAのカルボキシル基、あるいはPFOSのスルホン酸基が生体分子とエステル結合を作っている可能性も考えられよう。

以上の検討の結果、二枚貝試料中のPFOS等有機フッ素系界面活性剤の分析にはアルカリ分解による試料の溶解処理が極めて重要であることがわかり、以後この方法を用いて全国の二枚貝の分析を進めた。

（3）PFOS、PFOAの二枚貝中濃度分布

全国各地の沿岸で採取したムラサキイガイ、ムラサキイコ、ミドリイガイの身を均質化し、アルカリ分解-イオン対抽出法で前処理を行い、LC/MSMSでPFOS、PFOAの測定を行った。結果を図15にまとめる。棒グラフの位置は各採取位置を表し、棒グラフの高さはPFOS、PFOAそれぞれの濃度を表す。

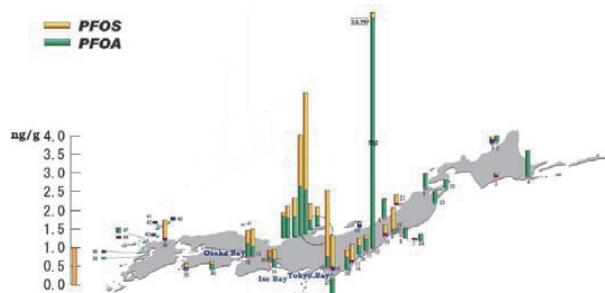


図15 二枚貝中のPFOS、PFOA濃度分布

これらの濃度は沿岸の多くの場所で1 ng/g（湿重量あたり）を下回る低いレベルにあったが、東京湾、石川県沿岸、それに茨城県北部の3つの場所でこれを超えるレベルの目立つピークが認められる。最も高かったのは北茨城市で採取したムラサキイガイで、10ng/gを超えるPFOAが見つかった。ちなみにここで違う時期に採取さ

れた試料を使って、先に述べた抽出法の検討を行っている。石川県沿岸では、PFOS、PFOAいずれについても、小松から金沢にかけてあたりをピークとする山形の分布が得られた。さらに、東京湾で採取した試料にも、1 ng/gを超えるPFOSが検出されている。黄色のPFOSの分布を見ると、石川県沿岸を別にすれば、東京湾、大阪湾、洞海湾、仙台周辺など、それぞれ大都市（東京、大阪、福岡、仙台）近傍の沿岸域で相対的に高めの数値が得られた。一方、PFOAの方は茨城北部と石川県沿岸が目立つ。石川県沿岸に限ればPFOSとPFOAの間に比較的よい相関が認められるが、全国で眺めればこれらの分布に明確な相関は認められない。東京都下の河川での分布についても両者に相関は認められず、これらの汚染源は共通のものではなく別々に存在する傾向が強いことが見て取れる。

これらの発生源についてさらに確認する目的で、石川県と北茨城市の河川、あるいは下水処理場の水を採取して測定を実施した。このうち、石川県のデータは前章にまとめた。いずれの場所でも、発生源を特定するところまではいたっていない。北茨城市の場合、採取場所は小河川の河口近くの岩場で、現場の海水、河口の河川水には1 µg/l以上の高い濃度のPFOAが検出された。さらに上流に遡ってPFOAを追跡したところ、小規模な工業団地に行き当たった。この中には、フッ素系の薬品を製造している会社が含まれている。また、石川県についてもフッ素系界面活性剤等の製造企業の工場がこの近傍に存在している。ただし、石川県はフッ素系界面活性剤の主要な用途の一つと考えられる繊維関連の企業も多く、いずれが発生源かについては、河川水、下水処理水などの調査では特定できなかった。石川県沿岸のPFOS、PFOAの分布は相互に似ているが、細かくみるとピークがずれているようにも見え、共通する発生源かどうかを含め、さらに詳細な調査が必要と考えられる。

これらの濃度と周辺海水濃度とを比較して、二枚貝におけるこれらの生物濃縮係数の推定を試みた。北茨城市の海水と二枚貝の比較から推定したPFOAのBCFは11であった。また、東京湾の二枚貝中PFOS濃度と文献にある海水中PFOS測定結果を比較して、PFOSのBCFとしては700という値が得られた。PFOSのBCF推定値はこれまで文献に報告されている類縁生物の値に近い^{18, 19)}。一方、PFOAの方はPFOSの1000分の1程度という大まかな記述が報告されているが、今回のデータではむしろ100分

の1程度と考えられる。逆に言えば、二枚貝中でのこれらの濃度レベルがほぼ同等な場所（例えば石川県沿岸）では、実際的水中濃度はPFOAの方が100倍高いことになる。この点を考慮に入れて改めて図を眺めると、PFOSレベルが相対的に高い地点は人口密集地帯の周辺の内湾に比較的限られ、それらの場所での水中の濃度レベルも一桁ng/Lレベルと低い値と推測されるのに対し、PFOAによる汚染はそれより1～2桁高いレベルで日本の沿岸のいくつかの場所で進行している様子が見て取れる。

(4) PFOS並びにC8～C12までのパーフルオロアルキルカルボン酸濃度の場所毎の特徴

研究推進の過程で、PFOS、PFOA以外の炭素数の異なるパーフルオロアルキルカルボン酸の汚染実態に関する報告が外部の機関から出されるようになってきた。PFOA以外の炭素数のものの用途に関する情報はほとんど見つからなかったものの、これらの工業用試薬はいずれも容易に、また相互に同等の値段で入手でき、かなり広く使われているのではないかと推測される。そこで、分析法をさらに改良してこれらの有機フッ素系界面活性剤を一斉に分析できる手法を開発、確立し、二枚貝試料を用いて日本の現状を把握することを試みた。

手法は基本的にこれまで確立したPFOS、PFOAの同時分析条件をもとにして、LCの溶出条件を、他の物質、とくに炭素数の長い、よりカラムに保持されやすい物質の分離まで可能なように拡張した。イオン源の条件はこれらの標準物質溶液を対象としてそれぞれ最適化した。最終的な条件は実験条件のセクションに記載されている。最適化作業の過程で、炭素数が長くなると、パーフルオロアルキルカルボン酸の標準溶液の安定性が確保できなくなっていくことに気づいた。C12のPFdDA (Perfluorododecanoic acid) まではこれまでと同じアセトニトリル：水混合系で実用的な範囲で安定な標準を作成することができたが、C14 (PFTeDA), C16 (PFHxDA), C18 (PFODA) については、水、メタノール、アセトニトリル、緩衝液、アセトン、並びにこれらの混合系のいずれを使っても安定な標準溶液を作成することができなかった。C18以外は基本的に一旦溶解するように見えるが、保存中に濃度が下がっていくことが確認できた。溶液は冷却するほど濃度低下が顕著になり、逆に暖めることで改善の様子は見られたが、抜本的な解決にはいたらなかった。最終的に、安定な標準の作成で

きたC8～C12の範囲のパーフルオロカルボン酸を対象に測定条件を確立し、実試料の分析を行った。なお、現時点では安定同位体ラベルのサロゲート化合物が入手可能なパーフルオロカルボン酸は、C8, C10, C12 (PFOA, PFDA, PFdDA)に限られる。C9, C11 (PFNA, PFuDA)については同位体希釈法が利用できないので、前処理過程での回収率やイオン化の阻害、促進作用は無視し、通常の標準物質で作成した検量線を用いる絶対検量線法で定量を行っている。

測定対象試料としては、PFOS, PFOAの分析で特徴的と考えられた地点を選んで分析を行った。すなわち、

- ① 人口密集地帯 日本を代表的な大都市の周辺沿岸域
東京湾, 伊勢湾, 大阪湾, 博多湾
- ② 遠隔地 (バックグラウンド地点) 人間活動の中心から遠く離れた離島や遠隔地を、汚染のバックグラウンド地点として選定
対馬, 戸賀湾, 利尻
- ③ 特異地点 PFOS, 或いはPFOAの特異的な局所汚染が見つかった地点
北茨城, 石川県 (金沢)

以上の9地点の情報を図16にまとめた。なお、図15とは異なる時期に再度採取し、測定を行った試料も含まれる。

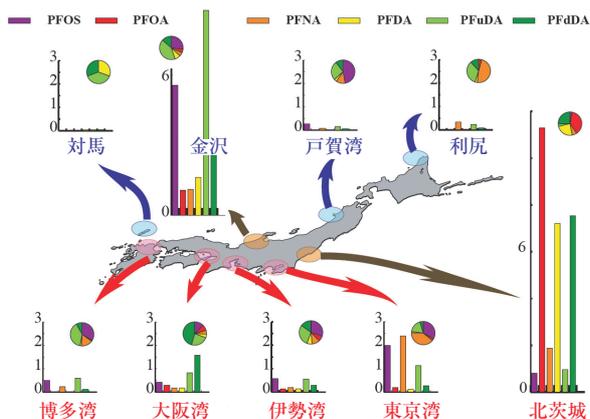


図16 フッ素系界面活性剤の分布パターンの地域差

まず4つの人口密集地点についてはいずれもPFOSが相対的に高めに検出されることをすでに指摘したが、それ以外の分布のパターンを見るとそれぞれに違いが認められる。東京湾ではC9, C11という奇数の炭素数のパーフルオロアルキルカルボン酸が相対的に高い。同様の傾向は博多湾の試料でも認められた。また、全体的に濃度レベルの低い遠隔地の戸賀湾, 利尻でも、類似の傾向が

認められている。一方、大阪湾ではC9は低く、炭素数のより多いC11, C12が相対的に濃度が高い傾向を示した。類似の傾向は金沢や伊勢湾でも認められている。これに対し、北茨城は炭素数が偶数のC8, C10, C12が多いという、他にない特徴的なパターンを示した。

(5) まとめ

二枚貝を用いた沿岸汚染調査を実施するため、分析手法の検討、確立を進めた。従来のホモジナイズ/イオン対抽出法では良い抽出効率がえられず、原理的に最もよい効率が期待されるアルカリ分解法と組み合わせた新しい方法を確立した。この手法を使って分布を調べた結果、PFOSについては石川県沿岸が相対的に高く、また大都市周辺の内湾沿岸域で高めの値が得られた。一方、PFOAについては茨城北部と石川県でホットスポット的に高いところが見つかるなど、PFOSと異なるパターンを示した。PFOS, PFOAはいずれも加圧液体抽出PFEで抽出後にアルカリ分解を行っても濃度が上昇することから、生体内ではフリーの形とは異なる化学形態で主として存在することが示唆された。

さらにC9～C12までのパーフルオロカルボン酸を含めた解析を行った結果、日本沿岸の有機フッ素系界面活性剤汚染の状況は、大まかに3つのパターンに類別できることがわかった。これらのパターンの違いは、恐らく主要な発生源の違いを反映しているものと考えられる。例えば東京都下ではPFOSとPFOAの発生源が異なる様子が河川調査から明らかになっているが、それ以外の物質相互の関係については情報が無い。これらの地点のうち、北茨城については少数あるいは単独の発生源である可能性もあるが、それ以外については、現時点では発生源の種類や数についての手がかりがつかめていない。

生物濃縮係数については、PFOS (~700) >>PFOA (~10) という結果が得られた。パーフルオロアルカンカルボン酸類の間でも炭素数が増えれば濃縮係数が上がる可能性が考えられる。生態系の食物網で二枚貝より高次の生物では、炭素数の長いPFuDA, PFdDAなど、あるいは今回対象に含めなかったより長鎖のパーフルオロカルボン酸類のBCFが大きく、生体内の濃度が高い可能性が考えられ、これらの状況調査も今後の課題と考えられる。

2.1.4 有機フッ素系界面活性剤に対する曝露マーカーの探索並びに体内分布に関する予備検討

本節では、魚類に対する有機フッ素系界面活性剤の曝露マーカーの探索に関する研究を中心に取りまとめる。また、本研究推進の過程で、齧歯類の実験動物を用いたPFOSの生物影響試験に関する共同研究を行う機会があり、実験後投与動物の組織を入手することができたため、投与後の体内分布に関する予備検討データとして肝臓、並びに脳中のPFOS濃度分布をあわせて報告する。

(1) 魚類におけるPFOA曝露マーカーの同定

PFOSやPFOAなどの有機フッ素系界面活性剤は高フッ素化脂肪酸同族体の基本構造を有しており、残留性有機汚染物質 (POPs) 候補の一つに挙げられている。これらの同族体は特に水溶性が比較的高く、水質汚染が懸念されること、また魚類に対して比較的高い残留性を示すものが含まれることから、その生態影響が懸念される。PFOAはげっ歯類でペルオキシゾーム増殖因子 (PP, peroxysome proliferator) であることが知られることから、魚類に対しても同様の作用を示すと想像されるが、その検討は十分に行われていない。

PPは細胞内に取り込まれると核内受容体であるペルオキシゾーム増殖因子受容体 (PPAR, peroxysome proliferator activated receptor) に結合し、肝臓のペルオキシゾーム中に存在する様々の脂肪酸代謝に関連する酵素群の生合成を誘導することが知られている。このPPARに依存した酵素誘導はPPの分子レベルの生理作用として最もよく知られているが、PPは一般に肝毒性を示し、また、少なくともげっ歯類では肝がんを引き起こすことから、PPARに依存した遺伝子発現が肝毒性や肝がんの発現に関与していると考えられる。しかし、その明確な証拠はいまだに得られていない。

PFOSやPFOAが魚類においてどのような遺伝子を発現するかを、げっ歯類と比較しつつ明らかにすることにより、PFOSやPFOAの生態毒性のメカニズムを解明するために必要な知見が得られると期待される。また、誘導された遺伝子産物がこれらの化学物質の曝露に特異的なものであるならば、環境からの曝露のよいバイオマーカーとなることと思われた。

本研究では、化学物質を曝露したメダカに発現される遺伝子をプロテオームの手法により同定することとした。メダカは、1) 化審法の生態毒性試験の試験動物である

こと、2) 我が国固有の生態系を代表する魚類であること、3) すでに実験動物として馴化されておりゲノムプロジェクトも進んでいること、など化学物質の生態影響を調べる上で幾つかの優れた性質をもっている。また、プロテオームの手法は、臓器中のタンパク質を2次元ゲル電気泳動により分離しLC/MSMSによりアミノ酸配列を分析して化学物質の曝露により実際に生合成されるタンパク質の同定ができるという、他のゲノミクスの手法にはない利点をもつ遺伝子発現の解析手法である。本研究の結果、PFOSの作用により、メダカの臍肝臓に特異的に発現され、生合成されるタンパク質が存在することが明らかになった。

1) 実験方法

化学物質への曝露は、1群5匹のオスのメダカ (体長2~3cm) を17 μ g/lのPFOAなどの化学物質を含む0.1%人工海水500ml (各化合物のDMSO溶液を150 μ l添加) 中で飼育して行った。対照群は同濃度のDMSOを添加した0.1%人工海水で飼育した。曝露中は給餌を行わなかった。曝露終了後、氷冷下で解剖し臍肝臓とエラを摘出した。5匹の臍肝臓およびエラをまとめて40mM Trisと4% CHAPSを含む8M尿素でホモジェナイズして組織を可溶化し、さらに、電気泳動を阻害する夾雑物を除くために2D Clean-up kit (アマーシャム) を用いてタンパク質を沈殿として分離した後、2% CHAPS, 2% IPG緩衝液, 2.5 mg/ml DTTを含む8M尿素に溶解し、ゲル電気泳動の試料溶液とした。

試料溶液をImmobiline Drystrip (18cm, pH 4~7, アマーシャム) に浸み込ませ、Multiphor II電気泳動装置 (アマーシャム) を用いて最大3500Vとする条件で7時間1次元目の電気泳動を行った。タンパク質が分離されたをImmobiline Drystripを30%グリセリンと2% SDSを含む6M尿素で平衡化した後、平板ゲル (Excel gel SDS XL 12~14%, アマーシャム) に載せ、さらに1000Vで3時間Multiphor II電気泳動装置を用いて2次元目のゲル電気泳動を行った。ゲル上に分離されたタンパク質はPlusOne Silver Staining kitを用いた銀染色によりスポットとして検出した。

銀染色されたスポットを切り出して、銀を酸化して除いた後、ヨードアセトアミド処理を行い、さらにトリプシン消化した。消化産物のペプチドを、炭酸アンモニウム水溶液を用いてゲルから抽出し、LC/MSMS (Q-trap

3000) によるアミノ酸配列の決定に供した。

2) 結果

PFOAを曝露したメダカの肝臓を2次元ゲル電気泳動で分離したところ、図17で示した1つのタンパク質のスポットが、対照のメダカに比べて再現性よく出現していた。このタンパク質の出現は類縁の化学物質であるPFOSやPFOAより炭素鎖の短いperfluorohexanoic acid (C6) の曝露では認められず、PFOA曝露に特徴的なものであった。このようなタンパク質のスポットの量的変化はエラでは認められなかった。このスポットのタンパク質の同定を、LC/MSMSにより解析したアミノ酸配列のデータを基に行った。

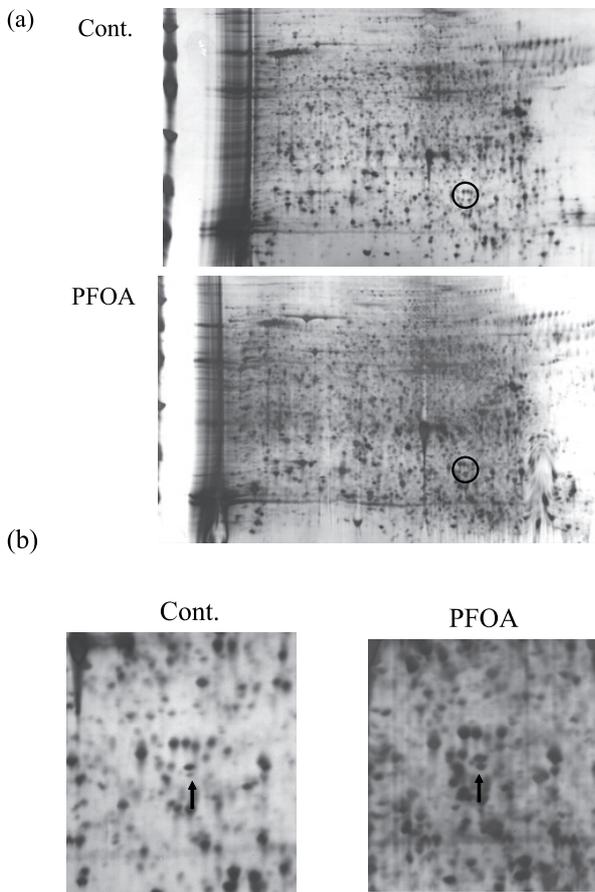


図17 PFOAを曝露したメダカ肝臓の2次元ゲル電気泳動 Cont. 対象群 PFOA 曝露群
(a) 全体、PFOA曝露で変化の見られた部分を丸印で示す。(b) 丸印の周辺の拡大図、PFOA曝露で誘導されたタンパク質を矢印で示す。

LC/MSMSのスペクトルをMascot Searchで解析した。図17で誘導されたタンパク質にはMSNEERTFIAIKPDGVQの配列が認められ、NCBIのデータベース上で検索したところ、この配列はサケとニジマスのnucleoside diphosphate kinase中に存在するアミノ酸配列と一致し

た。同様のタンパク質がPFOAにより誘導されることが明らかになった。

3) 考察とまとめ

PFOAのLC50は魚種により差があるが、報告されている中で比較的低いLC50を示すファットヘッドミノーの値の1/3を曝露濃度として設定した。3日間のPFOA曝露の後でも魚の状態に大きな変化は認められなかったが、げっ歯類では広範な遺伝子発現を引き起こす化学物質でもあり複数種類のタンパク質の発現が変化すると期待していたため、いささか意外な結果であった。

メダカはゲノムプロジェクトが進んでいる魚類であり、メダカで対応する配列が検索されることを期待していたが、最も拡充されていると考えられるNCBIのデータベースを用いても見いだすことはできなかった。メダカでは、全ゲノムの解析がほぼ終了しているものの、cDNA配列情報のアミノ酸配列情報への変換が十分に進んでいないとためと考えられた。

このタンパク質の誘導はPFOA曝露に特異的であることから、PPARなど核内受容体への特異的な結合に依存して引き起こされると考えられる。しかし、核受容体に依存した応答としては、生合成が誘導されたタンパク質の種類が少なく、従来の知見とは異なるものである。また、誘導されたタンパク質は脂質代謝に関わるものでなく、予想とは異なった。しかしながら、DNAアレイの解析などによれば、PFOA曝露で様々の薬物代謝酵素のmRNAが発現するものの(未発表)、脂質代謝酵素遺伝子の発現が顕著に引き起こされる訳ではなく、げっ歯類と魚類ではPFOAに対する応答、ひいてはPP1に対する応答が異なった様式で起こっている可能性も考えられる。今後の詳細な検討が必要である。

一般に、エラは水中から化学物質が直接曝露される臓器であり、化学物質の影響が現れやすいことがよく知られている。しかし、本研究でのPFOA曝露ではエラではなく、肝臓に影響が現れたことから、PFOSは一旦血液中に取り込まれた後、影響を表すものと考えられる。生体影響を明らかにする観点からは、他の臓器への作用も今後十分に検討する必要がある。

本研究で比較的高濃度の曝露とはいえ、PFOAの作用により特異的に誘導されるタンパク質が見いだされた。PFOAの生態毒性を考える上で、興味ある知見が得られた。より低濃度の曝露による発現を調べる必要はあるが、

曝露のバイオマーカー候補としても注目される。

(2) PFOS投与マウスの体内組織分布 (予備検討結果)
パーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) は、コーティング剤、界面活性剤、乳化剤など様々な用途に用いられてきた。しかし、最近では、強い毒性を示すこと、環境中に生息する多種の動物に蓄積しているとの報告がなされるなど、生体への影響が懸念されている。本検討では、ダニ誘発性アトピー性皮膚炎モデルを用い、PFOSのアレルギー性疾患へ及ぼす影響について検討を行ったが、その際に投与した実験動物の組織を実験終了後切り出し、二枚貝分析用に開発したアルカリ分解/イオン対抽出法によってPFOSの分析を行った。以下、分析結果を記載して、PFOSの体内分布を考察する上での基礎情報としてとりまとめる。

1) 実験条件

NC/Ngaマウス♂7週齢を入手して1週間飼育し馴れさせた後、週1回の割合で4回にわたり一定量のPFOS溶液を腹腔内投与し、4回目の投与2日後に屠殺して脳、肝臓を切り出した。秤量後凍結し、分析まで-80度で保存した。PFOSは二枚貝のアルカリ分解/イオン対抽出法を適用し、LC/MSMSで測定した。

PFOSの投与量として、以下のように設定した (各群5匹ずつ)。

- 1) 生理食塩水
- 2) Dp抽出液
- 3) Dp抽出液 + PFOS 0.25 µg/body
- 4) Dp抽出液 + PFOS 2.5 µg/body
- 5) Dp抽出液 + PFOS 25 µg/body
- 6) Dp抽出液 + PFOS 250 µg/body

2) 結果並びに考察

肝臓、脳内の濃度と投与量との関係を図18に示す。

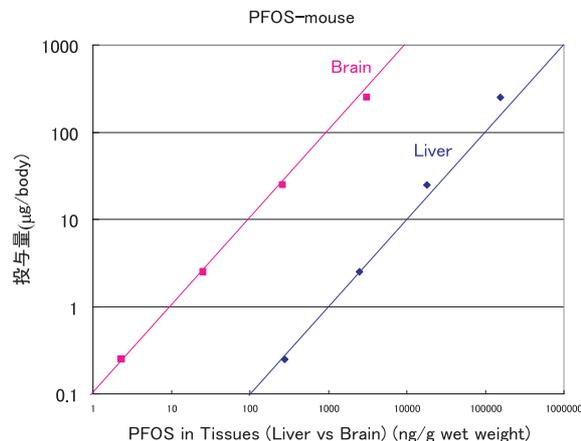


図18 PFOS投与マウスの肝臓、脳中濃度

PFOSは特に肝臓に集まりやすいことがこれまでに明らかにされている。それと比較すると脳内濃度はちょうど肝臓の1/100程度であった。いずれも投与量にほぼ比例して蓄積量の増加が認められた。細かくみると、肝臓中濃度については投与量増大に伴い1:1の比例関係 (図で斜めの直線) より低めに増加しているように見えるのに対して、脳内濃度は逆に高濃度側で1:1より高めに増加する傾向が見て取れる。

PFOSの体内動態については3Mがまとめた報告に¹⁴Cラベル化合物の単回静注後89日目の分析結果がまとめられている。これによると、脳には検出されていない。投与量の30.2%は尿に、12.6%は糞に排泄され、体内に残るPFOSの大部分は肝臓に存在していることが示されている。今回の実験とは実験動物 (マウスvsラット) を含めていろいろと曝露条件が異なっており、単純な比較はできないが、血液脳関門を通過して少量は脳に移行している様子が見えたこと、さらに濃度が増えると脳と肝臓との比率が増加し脳への移行促進の傾向が認められたことは重要な知見と考えられ、今後PFOSの毒性を考えていく上で脳神経系への影響研究を視野に入れる必要があることを示すものといえる。

2.1.5 PFOSの光分解条件に関する研究

生体・環境影響の懸念から製造停止になったPFOSのストックパイルの廃絶作業を見越して、PFOSの分解に関する基礎的検討を行った。きわめて安定で破壊されにくいC-F結合を壊すため、PCBの分解方法の一つである光分解法の応用を試みた。

(1) 実験方法

PFOSの光分解実験は、水中及びアルカリ性2-プロパノール溶液中 (IPA) の2つの反応系で行った。精製水またはアルカリ性2-プロパノール溶液 (水酸化ナトリウム68 mmol/lの2-プロパノール溶液) に、初期濃度20 mg/l (40 μ mol/l) となるよう作成したPFOS溶液0.75lで実験を開始した。使用した光反応装置は理工科学製UVL-32LB-1000Qで、低圧水銀ランプ (254nm, 32W) を内部照射法で行う装置である。窒素ガスで系内を置換した後、スターラーでかくはんしながら室温で10日間照射を行った。反応容器にはカートリッジカラム (ウォーターズ製 Sep-pak PS-Air) を装着し、気相中の成分を捕集した。反応期間中、24時間ごとに反応液約2 mlを採取し、LC/MS及びイオンクロマト分析に供した。また、同時に反応容器上部のヘッドスペースガスをガスタイトシリンジで100 μ l採取しGC/MS測定を行った。IPA中での光分解では期間中に白色固形物の析出がみられたため、反応終了後、生成した固形物を回収、洗浄、風乾しX線回折分析 (理学電機製 Ultima, Cu-K α 線) した。なお、東レテクノ製UV-500 (センサーT-254) によって測定したUVランプ管面での光強度は3.73mW/cm²であった。反応期間中の液温は36~46 $^{\circ}$ C (水中), 38~50 $^{\circ}$ C (IPA中) であった。また、対照として光を照射しない実験も同様に行った。

反応液中のPFOSはLC/MSで定量した。水中での光分解試料は、反応液0.5mlをメタノールで100mlに希釈して測定した。IPA溶液中での光分解試料は、反応液0.5mlを0.05mol/l塩酸1.5mlで中和後、コンディショニングしたカートリッジカラム (ウォーターズ製 Sep-Pak Vac tC₁₈, 10g) に負荷し、40%水/メタノール50mlで洗浄後、メタノール50mlで溶出させた。溶出液をメタノールで100mlに定容して測定した。測定条件は以下の通りである。HPLC: Agilent 1100 LC, カラム: Zorbax Eclipse XDB C-8 (長さ150mm, 内径4.6mm, 充填剤粒径5 μ m), 移動相: 10mM 酢酸アンモニウム/アセトニトリル (55:45), 流量: 0.2ml/min, カラム温度: 25 $^{\circ}$ C, 注入量: 5 μ l, MS: Agilent 1100 LC/MSD, イオン化法: ESI-Negative, ネブライザー: N₂ (50psi), ドライングガス: N₂ (10l/min), フラグメンター電圧: 220V, キャピラリー電圧: 4000V, SIMモニターイオン質量数: 499 (M-H)⁻。

水中での光分解試料及び対照試料について、イオンクロマトグラフでフッ化物イオンと硫酸イオンを測定した。

測定条件は以下の通りである。イオンクロマトグラフ: Dionex DX-320, カラム: Dionex IonPac AS12A (長さ200mm, 内径4 mm), 溶離液: 2.7mmol/l Na₂CO₃/0.3 mmol/l NaHCO₃, 流量: 1.0ml/min。

光分解生成物に関する情報を得るため、反応溶液はLC/ESI-MSによるスキャン測定を、また、毎日採取した反応装置のヘッドスペースガスは直接GC/MS測定した。10日間装着したPS-Airカートリッジはアセトン10mlで溶出し、窒素気流下で1 mlまで濃縮してGC/MS測定した。GC/MS測定はAgilent 6890GC, 5973MSDを用い、カラムはジューエルサイエンスAquatic (長さ60m, 内径0.25 mm, 膜厚1 μ m) またはChrompack PoraPLOT Q (長さ25 m, 内径0.32 mm, 膜厚10 μ m) で行った。

(2) 結果及び考察

1) 水中及びIPA中でのPFOSの分解

水中での光分解実験におけるPFOS濃度は経時的に低下し、それにつれてフッ化物イオンと硫酸イオン濃度が増加した (図19)。1日のPFOS分解率は8%, 10日では68%であった。光照射しない対照実験ではPFOS濃度は減少しなかったこと及びフッ化物イオンと硫酸イオンは検出されなかったことより、PFOSの濃度低下は揮散や吸着ではなく光分解によるものであること、また、光照射によってPFOSのC-F結合とC-S結合が開裂してこれらのイオンが生成したことが確認された。PFOS 1モルが完全に無機化すると、理論上1モルの硫酸イオンと17モルのフッ化物イオンが生成する。反応終了時における硫酸イオンの生成を、硫酸イオン生成モル量のPFOS初期モル量及びPFOS分解モル量に対する比でみると62%及び91%であった。また、フッ化物イオンの生成を、フッ化物イオンの生成モル量のPFOSの初期モル量の17倍及びPFOSの分解モル量の17倍に対する比は48%及び71%であった。硫酸イオンの増加はPFOS減少とほぼ対応していたが、フッ化物イオンの増加はPFOS減少の約70%程度に留まっていた。残り約30%のフッ素は短鎖のフルオロカーボンとして気相に移行した可能性が考えられた。

IPA中での光分解実験におけるPFOS濃度は、1日の光照射で大きく低下した後緩やかに減少した (図20)。1日のPFOS分解率は76%, 10日では92%であり、初期分解が早かった。水中での反応と同様、対照試料ではPFOSの濃度の低下はほとんど見られなかったことから、IPAの場合でも光分解が起きたものと考えられた。析出した

白色固形物のX線回折分析では、炭酸ナトリウムの回折ピークの他にフッ化ナトリウムの回折ピークが確認された(図21)。このことから、光照射によってC-F結合が開裂して生成したフッ化物イオンからフッ化ナトリウムが生成したことが確認された。IPA中での光分解実験における1日後の分解率は、水中での分解率の9.5倍を示し、分解処理技術としての可能性が考えられた。IPA中でのPCBの光分解の反応機構については、入射光によって生成した2-ヒドロキシプロピルラジカルを介して連鎖的に脱ハロゲンが進行することが知られており、IPA中での光分解が速いことは、この反応機構がPFOSの光分解に関与したと考えられる。但し、PFOSを完全に分解するには条件設定のための詳細な実験が必要である。PFOSの光分解反応を擬一次反応と仮定して求めた反応速度定数は、水中及びIPA中で 0.13d^{-1} 及び 0.93d^{-1} であった。半減期は5.2d及び0.75dであり、それに要する入射エネルギーは、約20000kJ/g及び約2640kJ/gであった。

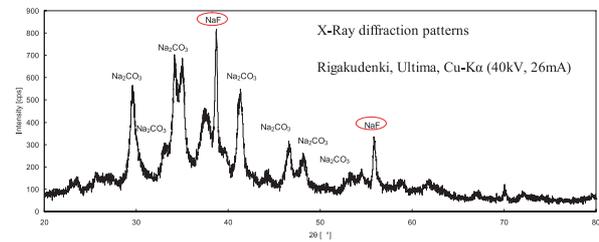


図21 アルカリ性2-プロパノール中での光分解時に析出した白色固形物のX線回折像

PFOSには炭素鎖が分枝した異性体が存在することが知られており、LC/MS測定において4本のピークが観察された。保持時間の小さいものから順にピーク番号を付けると、最も溶出が遅くかつピークが大きいピーク4が直鎖の異性体であった。IPA中での光分解における反応速度定数は、直鎖の異性体(ピーク4)の 0.93d^{-1} に対し、ピーク1が 1.0d^{-1} 、ピーク2が 2.5d^{-1} 、ピーク3が 1.8d^{-1} と、分枝した異性体は直鎖の異性体よりも分解が速かった(図22)。

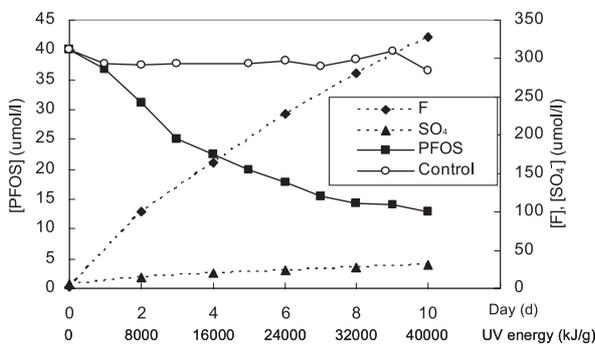


図19 水中での光分解時のPFOS, フッ化物イオン, 硫酸イオンの濃度変化

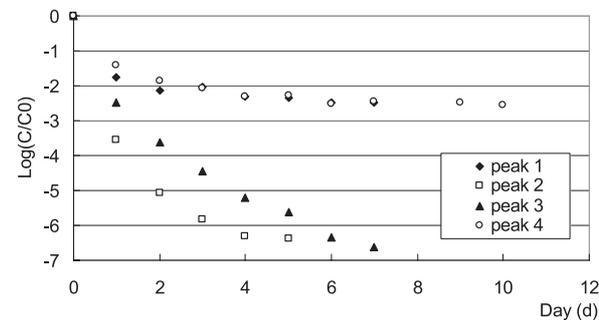


図22 アルカリ性2-プロパノール中での光分解におけるPFOS異性体の分解速度定数

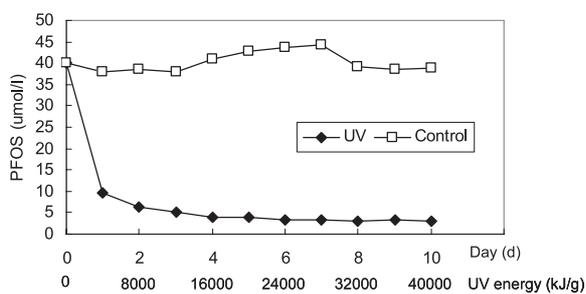


図20 アルカリ性2-プロパノール中での光分解時のPFOS濃度変化

2) PFOSの光分解生成物の検索

気相中の生成物の検索において、反応容器上部から採取したヘッドスペースガスのGC/MSでのスキャン測定では、溶媒や実験雰囲気由来とみられる炭化水素しか検出されなかった。そのため、含フッ素化合物のマススペクトルによく見られるフラグメントイオンの質量数を設定し、SIM測定を行った。ヘッドスペースガスの $m/z=69$ のSIMクロマトグラムを図23に示す。 $m/z=69$ は CF_3 由来であり、パーフルオロ化合物に特徴的なものである。1日目の試料の保持時間14分近傍のピークは C_7F_{16} の保持時間と一致した。このピークは次第に小さくなり、代わりに保持時間3~9分に複数のピークが出現した。また、 $m/z=51$ のSIMクロマトグラムにおいて、保持時間3~

9分に複数のピークが確認された(図24)。 $m/z=51$ は CHF_2 に由来するもので、パーフルオロ化合物からは出現しない。従って、このフラグメントイオンを示す反応生成物は分子内に1つ以上の水素原子を有する含フッ素化合物であると考えられる。このような含フッ素化合物が生成していることは、C-F結合が開裂して生成したラジカルが溶媒から水素原子を引き抜いたことを示している。入手できたフルオロカーボン標準品(CF_4 , CHF_3 , C_2F_6 , C_3F_8)の保持時間との比較から、保持時間2.8分のピークは CF_4 、3.0分のピークは C_2F_6 及び CHF_3 、3.4分のピークは C_3F_8 と一致した。保持時間が一致しただけであることから物質の同定はできていないが、短鎖のフルオロカーボンが生成していることは確実にであろう。これらの化合物のピーク面積は、図23に示したように経時的に増加しており、PFOSの光分解の進行に伴って生成したものと考えられた。IPA中の光分解においても、同様に気相成分中に短鎖フルオロカーボンが確認されたが、強度は小さかった(図25)。カートリッジカラムで捕集した気相成分のGC/MS測定では、 C_8HF_{17} と同一保持時間のピークが観察された(図26)。 C_8HF_{17} はPFOS($\text{C}_8\text{F}_{17}\text{SO}_3\text{H}$)から SO_3 が脱離した物質であることから、C-S結合が開裂し水素が付加されたものと推察され、その反応では水あるいはIPAが水素供与体になったと考えられた。また、保持時間4.5分のピークは、 $m/z=69$, 119, 131, 281等のパーフルオロ化合物に特徴的なフラグメントイオンがあること、また $m/z=51$, 101, 151等FがHに置換したフラグメントイオンがあることから、炭素数が6以上の含フッ素化合物と推測されるが同定にはいたらなかった(図27)。なお、PFOSの光分解によって、温室効果ガスである短鎖のフルオロカーボンが生成することが確認されたことから、環境への放出が起きないように留意が必要である。

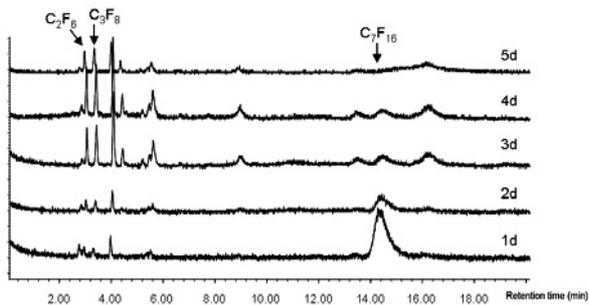


図23 水中でのPFOSの光分解における気相成分のSIMクロマトグラム ($m/z=69$)
下より、1日目、2日目、3日目、4日目、5日目。

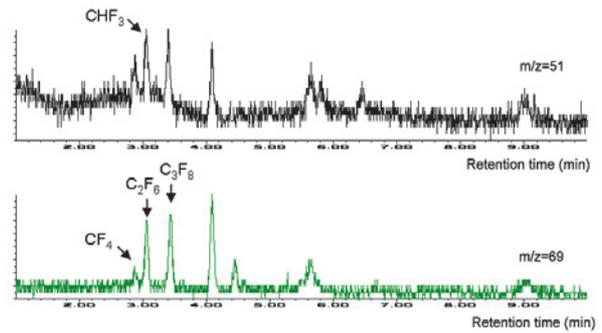


図24 水中でのPFOSの光分解における気相成分のSIMクロマトグラム(5日目)
上段： $m/z=51$ ，下段： $m/z=69$ 。

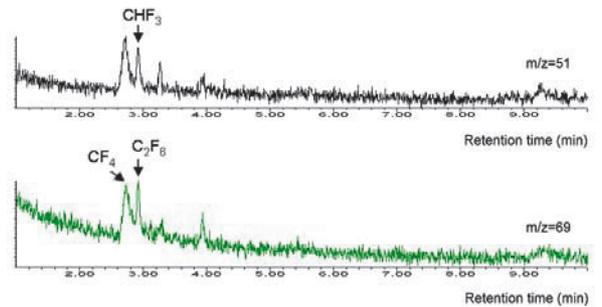


図25 アルカリ性2-プロパノール中でのPFOSの光分解における気相成分のSIMクロマトグラム(5日目)
上段： $m/z=51$ ，下段： $m/z=69$ 。

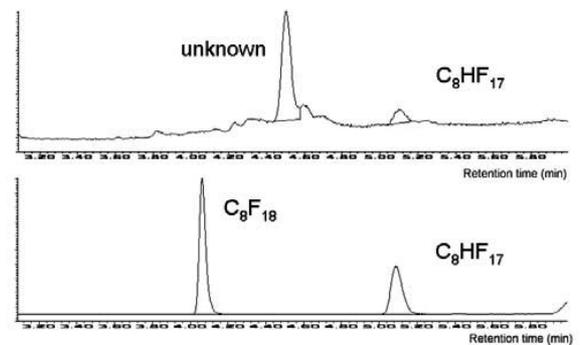


図26 水中でのPFOSの光分解における気相成分のSIMクロマトグラム ($m/z=69$)
上段：分解生成物，下段： C_8F_{18} 及び C_8HF_{17} 標準溶液。

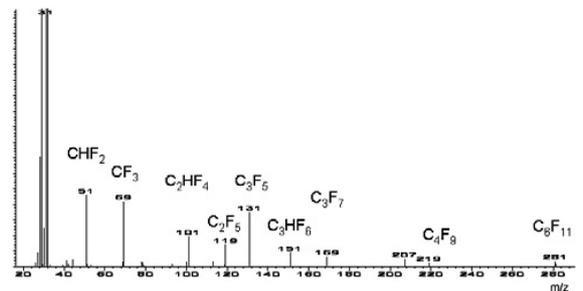


図27 分解生成物の質量スペクトル(図26上段のunknown peak)

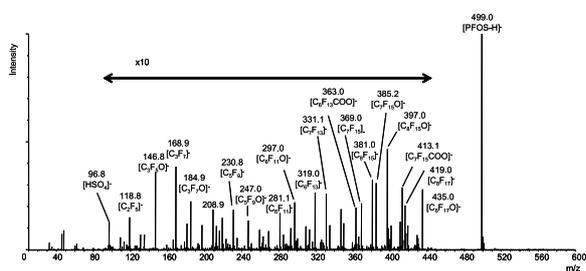


図28 水中でのPFOSの光分解における液相成分のESIマススペクトル

液相中の生成物の検索においては、水中での光分解溶液（1日目の試料）を直接ESI-MSで測定した。得られたマススペクトルを図28に示す。m/z=419のイオンは $[C_8F_{17}]^-$ であり、 C_8HF_{17} から脱プロトンしたイオンである。 C_8HF_{17} はPFOSのC-S結合が開裂して生成したラジカルに水素が付加したものと考えられ、気相中でも確認されている。また、m/z=435のイオンは $[C_8F_{17}O]^-$ であり、 $C_8F_{17}OH$ から脱プロトンしたイオンである。 $C_8F_{17}OH$ はPFOSのC-S結合が開裂したラジカルにOHが付加したものと考えられる。m/z=413のイオンは $[C_7F_{15}COO]^-$ であり、パーフルオロオクタン酸（PFOA）から脱プロトンしたイオンである。HoriらはPFOAの光分解において、 C_7F_{15} とCOOHの間のC-C結合が開裂して $C_7F_{15}OH$ が生成し、これから脱HFと加水分解によって $C_6F_{13}COOH$ が生成するという分解経路を提案している²⁰⁾。今回試みたPFOSの光分解においても、PFOAの光分解と同様の経路で $C_8F_{17}OH$ からPFOAが生成したものと推測した。これらの生成物に対してそれぞれ質量数が50少ないイオンが観察されている（m/z=419に対してm/z=369, m/z=435に対してm/z=385, m/z=413に対してm/z=363）。これはいずれも元の物質の炭素鎖が CF_2 だけ短くなった物質に対応しており、光分解によって炭素鎖の開裂が進んだものと考えられる。また、 $[C_8F_{15}O]^-$ 及び $[C_8F_{15}]^-$ と考えられるm/z=397及びm/z=381のイオンも検出されており、各々 $C_8F_{15}OH$ 及び C_8HF_{15} から脱プロトンしたイオンである。これらの生成経路は明確でないが、PFOSのC-S結合開裂時にC-F結合の開裂も起きていた可能性がある。これらの物質についても順次 CF_2 が脱離した物質に対応するm/z=347, 297, 及びm/z=331, 281が観察された。

(3) まとめ

水中及びIPA中でのPFOSの光分解実験を行い、PFOS

濃度の減少とフッ化物イオンや硫酸イオンの生成を確認し、PFOSが光分解することを初めて明らかにした。IPA中での光分解実験における1日のPFOS分解率は76%、10日では92%であり、PFOSを完全に分解するには詳細な条件設定のための実験が必要であるが、分解処理技術としての可能性を示した。PFOSの光分解の反応速度定数は、水中とIPA中でそれぞれ $0.13d^{-1}$ 、 $0.93d^{-1}$ であった。水中でのPFOSの光分解は非常に遅いため、一般環境ではPFOSの光分解はほとんど起こらないと考えられる。IPA中では、2-ヒドロキシプロピルラジカルを介した分解機構が関与して分解が速く進んだものと考えられた。光分解生成物として短鎖のフルオロカーボン類の生成が確認され、これらは反応の経過とともに増加する傾向が見られた。これらの一部は CHF_2 由来のフラグメントイオンを有することから、水あるいはIPAが水素供与体となって分子内に水素原子を有する含フッ素化合物を生成したものと考えられた。水中での光分解溶液を直接ESI-MS分析して得られたマススペクトルから、フルオロカーボン類、フルオロアルコール類、フルオロカルボン酸類及びそれらから順次 CF_2 が脱離したイオンが確認された。

2.2 放射性炭素¹⁴Cを用いた大気粉じん中炭素成分並びに多環芳香族炭化水素の発生源解明に関する研究

2.2.1 はじめに

2章では意図的に合成して使われたPOPs様化学物質による環境汚染への取り組みについて、有機フッ素系界面活性剤PFOSとその類縁化合物を取り組み優先順位の高い物質として取りあげ、これらに対する研究結果をまとめた。本章では、非意図的生成化学物質に対する分析的アプローチとして、加速器質量分析法による放射性炭素¹⁴C測定を通じた大気中燃焼起源物質、とくに多環芳香族炭化水素PAHsの発生源探索に関する研究をまとめる。

大気中の微小粒子は特に都市域における住民の健康に影響を及ぼしうる主要な因子の一つとして注目を集めており、その発生源についてはこれまでに多くの研究が行われている。特に、各種元素の発生源毎の特徴を元に実際の測定結果から発生源毎の寄与を見積もるChemical Mass Balance法（以後CMB法と略称）により、東京都内を初め様々な場所で大気粉じんの発生源の見積もりが行われてきている。しかしながら、これらの見積もりでは大気粉じん中の炭素成分を直接計算過程で考慮することができず、他の元素の発生源毎の特徴、平均値を使った寄与の見積もりに頼って配分されていた。炭素成分中には、燃焼起源のPAHsを初めとして様々な有害化学物質が含まれている。ディーゼル排ガスの健康影響においても、この炭素成分の寄与は大きいと考えられており、そのキャラクター化並びに主な発生源の信頼できる推定が求められてきた。また、これらは大気化学的に光化学スモッグの発生と密接な関係をもち、都市域、農村部、遠隔地を問わず地表近くの大気汚染状況を支配する主要な要素と考えられていることから、その実態解明は重要な意義を持つ^{21, 22)}。

炭素成分の測定からその発生源を探る方法として、PAHsの成分の詳細分析から推定する手法がある²³⁾。PAHsは複数のベンゼン環が連続して形成される平面状の化合物で、ベンゼン環の数とつながり方、さらにはベンゼン環に対するアルキル鎖の修飾の仕方の違いなどにより、極めて多種類の化合物が存在する。石油、石炭等化石燃料に含まれるほか、炭素を含む物質の燃焼過程で非意図的に生成することが知られている。非意図的燃焼起源のPAHsの発生の様子は、燃料、燃焼条件などによって大きく変化するが、木材（薪）、ディーゼルなどいくつかの燃焼燃焼に関して、典型的な燃焼条件において生成する

特徴的な化合物が知られており、その化合物の存在や、他の物質との比を使って発生源毎の見積もりを行うSource Apportionment手法が提案されている²³⁾。しかしながら、実際の燃焼由来の発生の仕方は極めて多様であり、PAHsのパターンに基づく発生源探索は主な発生源の同定という定性的な記述のレベルにとどまらざるをえなかった。

これに対して、炭素の同位体比を用いて発生源に関する定量的な解析を進める考え方が提案されている。安定同位体比¹³C/¹²Cは、メタンなど特殊な例を除くと一般に発生源毎の違いが少なくまた比の値と発生源の特徴とが必ずしも単純な関係にないこと、さらに燃焼過程で同位体分別がおきて事態が複雑化する可能性のあることなどから、PAHsなど大気粉じん中炭素成分への応用についてはいまだ基礎研究のレベルにとどまっている²⁴⁾。一方、宇宙線起源の放射性炭素¹⁴Cは、以下に述べるように発生源を生物起源と化石燃料という大きく二つのグループに分けて定量的寄与を見積もることができる²⁵⁾。必ずしもこれだけで発生源を特定できるわけではないが、従来のCMB法による発生源推定の確かさを確認したりCMB法に組み込んで炭素を含む新たな発生源推定手法の開発が期待されること、また有害性をもつ個々の化学物質ごとにその主要発生源を探求できる可能性が広がることなど、非意図的生成化学物質の適正管理に向けて新たな基盤情報を提供できるものと期待される。

¹⁴Cは大気中で絶えず微量ながら生成され、酸化されて大気中二酸化炭素のプールに入ったあと光合成により植物に固定され、生態系を巡っている。そのため、基本的に現在生きている生物中の炭素原子には、大気中二酸化炭素中の¹⁴C/¹²C比と同じく約1兆分の1の割合で¹⁴Cが含まれている（¹⁴C/¹²C=1.2×10⁻¹²：これを現代炭素レベルと称する）。大気粉じん中の炭素の起源としては、たとえば生きている植物の発生する揮発性有機化合物（VOC）並びにその反応物が凝集して形成される微粒子、あるいは焼却炉、暖炉などで紙や木製品、材、薪など（いわゆるバイオマス）を燃やしてできる微粒子などが考えられる。ほかに、農作物収穫後の葉や茎などの焼却、野焼き、キャンプファイヤー、山火事などに由来する微粒子、調理由来の微粒子（油粒子、焼き魚、焼き肉の煙粒子など）、さらには花粉、土壌粒子中の植物遺骸由来の微粒子などがこの現代炭素レベルの大気中微粒子の発生源として考えられる。一方、化石燃料は古代の生物の遺骸から作られたもので、おそらく生成時点では現在の生物組織と同

様、一定の¹⁴Cを含んでいたと考えられるものの、その半減期をはるかにこえる地質学的な長い年月の間に¹⁴Cは事実上完全に崩壊してしまい、現在の化石燃料には検出可能なレベルの¹⁴Cは残されていない。すなわち、ガソリン、ディーゼルなどの燃焼に伴い大気中に放出されたVOCの凝縮微粒子あるいは微細なすすなど元素状炭素微粒子、石炭燃焼由来の微粒子などは基本的に¹⁴Cを含まない。従って、実際の大気粉じん中、さらにはその中の化合物毎の¹⁴C/¹²C比を測定することで、その起源を生物（あるいはバイオマス燃焼）起源と化石燃料起源の2つの発生源グループに定量的に割り振ることができることになる。

この手法の基本となる考え方は¹⁴C研究のかなり初期のころから気付かれ、実践されてきた。宇宙線照射によって大気中で微量の¹⁴Cができることに最初に気付いたLibbyは、¹⁴Cを含まないはずのコントロール試料として石油、石炭などの化石燃料をあげている²⁶⁾。Suessは産業革命以来の化石燃料燃焼によって大気中二酸化炭素中の¹⁴C/¹²C比が減少してきていることを、木の年輪にそった¹⁴Cの測定で示した²⁷⁾。このSuessの論文がでた直後に、デトロイト並びにロサンジェルスのスモッグ中炭素成分が主として自動車排出粒子（＝化石燃料起源で¹⁴Cを含まない）起源であることを示した最初の研究が報告された²⁸⁾。この報告では、カウンティング法でごくわずかの¹⁴Cを正確に定量するために、直径38インチ（約1m）という巨大な大気粉じん捕集装置を作成して数十グラムの単位で大気粉じんを捕集し、その中に含まれる炭素の¹⁴C測定を実施している。結果は予想通り、大気粉じん中炭素の大半が¹⁴Cを持たない化石燃料起源であることを示すものであった。Libbyが宇宙線起源の¹⁴Cの大気中生成の可能性を報告してから10年を経ない今から半世紀前に、すでにこうした研究が始められたわけであるが、当時のカウンティングによる¹⁴Cの測定では極めて大量の試料を必要とするために、その後の研究は遅々として進まなかった。1970年代後半に計数効率を極限まで高めたミニチュア計数装置が作られたあと、さらに加速器質量分析法AMSが実用化され、ようやく研究が進展するようになってきた²⁵⁾。最も熱心にこの研究を進めたのは米国のグループで、NISTのCurrieを中心として様々な研究が進められた²⁵⁾。また、環境保護庁EPAにより全米のいくつかの都市を選んで大気粉じん中の¹⁴C測定が行われ、解析が進められている（ICAP：Integrated Air Cancer Project）。1996年には、こうした解析を実際の環境化学物質ごとに行うた

めの分取ガスクロマトグラフに基づく方法が提案され²⁹⁾、その後都市大気粉じん中のPAHs測定なども試みられ始めた。

1996年に稼働を開始した国立環境研究所の加速器質量分析施設NIES-TERRAにおいても、当初からこの方面の研究を展開することを意図してガス状の試料を導入して測定のできるガスイオン源を試作、設置するなどの工夫を凝らしており³⁰⁾、外部競争的資金である国立機関原子力試験研究費を獲得して1997年から化合物毎の¹⁴C測定手法の開発、確立を目指す「GC-AMS」プログラムを開始した。特に、環境試料中に存在する微量の化合物を個別に分取、精製しながらその中の¹⁴C濃度を測定するためのごく微小試料前処理・測定技術の開発、確立を進めながら、いくつかの環境化学物質を具体的なターゲットとして研究を推進した。当初のターゲットは海洋底質中の有機物で、炭素数の異なる個別脂肪酸毎の年代測定による堆積年代の新しい決定法の開発、並びに海洋炭素循環の解明に関する研究を中心として研究を進めてきている³¹⁾。こうした技術開発を背景として、本研究開始前にはお堀の堆積物中のPAHsの分析を行い、都内の燃焼起源PAHsの主要発生源が化石燃料であること、その化合物濃度は最近数十年の間に減少してきている一方、その中のバイオマス燃焼起源の割合が低いながらも近年にむけ増加していることを明らかにした³²⁾。

こうした経緯を背景に、本研究では大気粉じん中炭素成分を直接のターゲットとして、その発生源に関する定量的な解析をすすめることを主たる目的とし、特に燃焼起源の非意図的生成部分の影響解析に着目して以下の研究を推進した。一般に燃焼起源の炭素は、粒径の小さい画分（PM_{2.5}以下）に存在している。燃焼により一般に有機炭素、元素状炭素いずれも生成するが、有機画分には他にも様々な起源をもつ物質が混入してくるのに対して元素状炭素は基本的に燃焼起源のすすが中心と考えられる。さらに、燃焼に由来する非意図的生成化学物質の代表例としてPAHsがあげられる。特に大気粉じん中に含まれるPAHsで分子量が大きく揮発性のほとんどないものは、基本的に燃焼により生成し大気中に放出されたものと考えてよいであろう。一方、粒径別の粉じん採取そのものはすでに市販の装置があり実用化されているが、有機体、無機体の確実な分離、さらにはPAHsの各化合物の大量分離・精製技術についてはその確立を図ること自体が一つの重要な研究課題である。

以上のことから、燃焼起源の非意図的生成化学物質の発生源の探索にむけて、以下の3つのアプローチを段階を追って推進し、最終的に大気粉じん中の炭素成分、特にPAHsの¹⁴C濃度測定を行って、日本におけるこれらの発生源の概要を定量的に明らかにすることを目的として研究を進めることとした。

- 1) 粒径別の¹⁴C濃度測定。特に燃焼起源と目される微細粒径画分の分析と季節変化、年変化の解析を進め、大気粉じん中の炭素成分の発生源における化石燃料の寄与率の定量的な把握を進める。
- 2) 無機/有機炭素成分の分離手法の開発並びにそれぞれの画分中の¹⁴C測定。特に燃焼起源と考えられている元素状炭素中¹⁴Cの測定から、都市部における燃焼起源炭素中の化石燃料の寄与率を推定する。
- 3) 多環芳香族炭化水素の単離精製並びに¹⁴C測定による化石燃料の寄与率の推定。

いずれの場合も、特に都市部における自動車排ガス由来の寄与が主体と考えるこれまでの関連研究に対して定量的なデータを提供し、最終的には都市部における今後の大気汚染対策への貢献を目的とするものである。なお、これらの研究はいずれも所内外の他の研究グループとの共同研究で、それぞれ研究費を持ち寄り共同研究を推進した。共同研究先が主に試料採取と試料前処理作業を、また国環研側が前処理の技術指導と測定を担当し、前処理以降は主として国環研の前処理施設並びにAMSを使って測定を行う形で役割分担を行っている。

2.2.2 大気粉じん中炭素成分の粒径別の¹⁴C/¹²C比測定並びにその季節変化、経年変化

最初に、大気粉じんをハイボリュームサンプラーによって粒径サイズ毎に分離して捕集し、燃焼起源の寄与が大きいと考えられるPM_{2.5}、特に1μm前後からそれ以下のサイズの粒子画分における¹⁴C測定を行って、自動車排ガスの寄与率の推定を行った。採取地点としては道路の沿道（川崎、都心北の丸トンネル）、都区内で道路際から離れた奥まった場所で比較的平均的な都市部の状況を反映していると考えられる場所（港区白金台）、地方都市で周囲を農村に囲まれている場所（つくば）の3タイプの採取地点を選び、化石燃料燃焼起源炭素に対するバイオマス燃焼（ゴミ焼却場、野焼きなど）由来の炭素の寄与の推定を合わせて行うことを目的とした。

なお、厳密にいうと大気中¹⁴Cレベルは1950年代初頭から60年代半ばにかけての大気圏核実験によりかく乱を受けており、その影響でバイオマス中¹⁴C濃度も近年は年代ごとに変化している。以下の議論は、バイオマス起源量の大きな推定にすぎないことに留意されたい。例えば、焼却場に運びこまれる木製品の製造に使われた木の生育年代によっては、その中の¹⁴C濃度が現代炭素レベルよりかなり高く（1965年には大気圏核実験の影響で大気中二酸化炭素中¹⁴Cが自然レベルの2倍にまで増加し、その後自然レベルに向けて指数関数的に減少を続けている）、結果的にバイオマスの寄与を過大に見積ってしまう事態も起こりうる。逆に言えばその¹⁴C濃度を直接測定できれば、焼却に至る木製品の平均寿命の推定もできることになる。実際には焼却のために投入される化石燃料のほか一緒に燃やされるプラスチック製品（=化石燃料）の寄与、木材チップを固めて材としての利用を拡大する各種接着剤（=化石燃料起源）の利用などが入るため単純な話ではないが、同位体比測定の別の応用の可能性として今後さらに検討の余地があると思われる。

粒径別の大気粉じん捕集方法として、ここではハイボリュームアンダーセンサンプラー（柴田科学；AH-600）を採用した。採取は、東京都港区白金台にあった国立保健医療科学院（旧国立公衆衛生院）の屋上と、川崎市の交通量の多い道路際で実施した。毎分556リットルの速度で1週間連続サンプリングを行ってこれを1試料とし、これを毎月1回行って各粒径毎の¹⁴C濃度の変化を追跡した。カットオフ平均粒子径として、7.0μm以上、7.0～3.3μm、3.3～2.0μm、2.0～1.1μm、1.1μm以下の5つの画分に分離された粉じんをそれぞれ別々の石英フィルター上に捕集し、後に述べるような検討を行った上で適宜前処理を実施して、それぞれの炭素成分中¹⁴C濃度を加速器質量分析法で測定した。

¹⁴C測定に先立ち、前処理条件などの検討を行った。アンダーセンサンプラーを用いた大気粉じん捕集に使われる石英フィルターには、石英繊維のバインダーの中にAMS測定に影響するほど多くの炭素成分が含まれていることがわかり、いろいろと条件検討を行った結果、予備加熱で検出下限以下まで除去できることがわかった。一方、粉じん中の炭素成分に含まれる¹⁴C測定を行うためには、粉じん中の炭素成分をすべて二酸化炭素に変えて精製し、さらに還元してグラファイトに変換する必要がある。二酸化炭素への燃焼には、石英管に酸化銅と一緒に

試料を封管して高温に加熱する方法がとられる。今回の場合、石英フィルターと粉じんの分離ができずフィルターごとの処理が必要となるため、通常サイズの石英管は使えない。種々検討の結果、真空ラインへの結合のため上部を通常の直径9mmの石英管とし、その下に直径30mm、長さ30cmの太い石英管をつないだ特注の燃焼管を作成し、これに通常の5倍量の酸化銅(5g)並びに還元銅(2.5g)、銀(適量)を加えて850度、2時間加熱を行うことで粉じん中炭素成分の二酸化炭素への定量的な変換を行った。なお、捕集後のフィルターはあらかじめ密封できる容器(ガラス製デシケーターを利用)の中に入れて6時間室温で塩酸蒸気にさらし、炭酸塩を除去する操作を行っている。

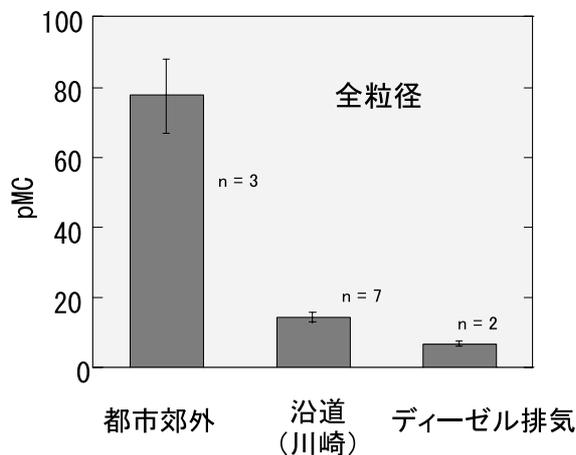


図29 大気粉じん中並びにディーゼル排気中炭素成分の¹⁴C濃度 (pMC表示)

通常のハイボリュームサンプラーで採取した全粒子画分でみた時の¹⁴Cの測定結果を図29にまとめる。横軸は捕集場所を表し、縦軸は¹⁴C濃度をpMC (percent Modern Carbon: 測定結果を現代炭素レベル = 1.2×10^{-12} に対するパーセント比率で表した数値) で表している。なお、ディーゼル排気は、ディーゼル排出粒子をディーゼル車の排気管から直接採取して前処理、測定を行った。その他、フォークリフト排気管からの採取試料の測定、並びに重金属測定用の環境標準試料として、高速道路のトンネルで採取された試料から調製された「自動車排出粒子」の測定も行っている。これらのエンジン排出粒子の測定結果はpMCとして0.5~5.4%の範囲に収まっており、化石燃料燃焼由来のDead Carbonとして矛盾のない数値になっている。これと比較して、川崎市の交通量の多い道路沿道での大気粉じん中炭素¹⁴C濃度も10数%pMCにとどまっており、道路際には予想通り自動車排ガスの影響が圧

倒的であることが示された。都心の北の丸トンネルでもほぼ同様であった。一方、田園に囲まれた地方都市であるつくばになると様子が大きく異なり、Dead Carbonの寄与は2, 3割に減少し、バイオマス燃焼等のModern Carbonの寄与が大部分になる。

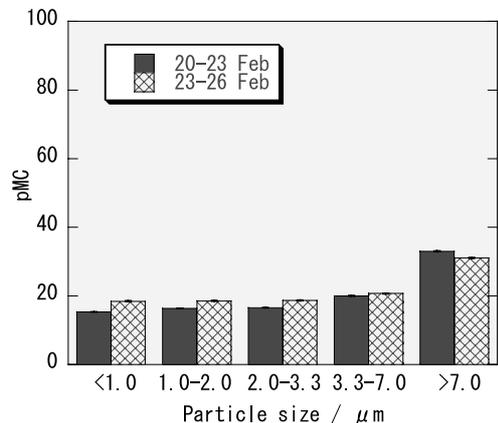
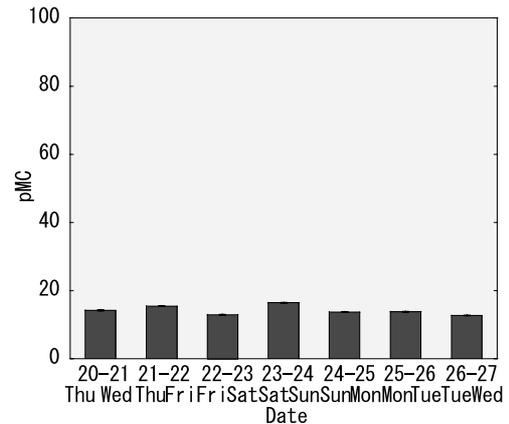


図30 川崎沿道(2月)における1週間の変動(上)と粒径別分布(下)

自動車排ガスの影響の大きかった川崎で日間変動並びに粒径分布を調べた結果を図30に示す。周辺の工場の操業状況を反映して交通量の変化も予想されたものの、全粒子画分で見ると一週間に渡って明確な日間変動は認められなかった(上)。一方、粒径別(下)で見ると、2回の捕集いずれにおいても、燃焼起源粒子の多いと想定される粒径の小さい画分の方が粗大粒子画分より¹⁴C濃度が低い。粗大粒子画分には自動車によりまきあげられる土壌粒子なども含まれてくるので、これらの中に含まれる植物破片や植物由来成分などがModern Carbonの供給源になっているのではないかと想像される。この7.0μmを超える最大粒径部分を除くとそれ以外の粒径画分では¹⁴Cの濃度は10数~20%pMCと比較的均一で、微細粒子で特に化石燃料の寄与が高まるような明確な傾向は認められなかった。

これに対し、都区内の一般的な状況を反映すると考えられる白金台での粒径別測定の実験結果の様子を図31に示す。年間を通じて大気粉じん中炭素成分はpMCとして40%前後の¹⁴Cを含んでおり、大まかにいって6割が化石燃料、4割が生物（あるいはバイオマス）起源であり、上記の川崎とつくばの中間的な状態であることがわかる。また、粒径別変化、季節変化もそれほど大きなものではない。2.0 μ m以上の比較的大きな粒径では、4月、10月に他の時期より¹⁴C濃度が上昇する傾向が認められる。一方、最も粒径の小さい1.1 μ m以下の領域で、8月だけ¹⁴C濃度が減少した。これに対して、冬の12月、2月に特に¹⁴C濃度が下がる傾向は認められず、冬期の化石燃料の暖房使用による¹⁴Cの低下減少は特段認められなかった。

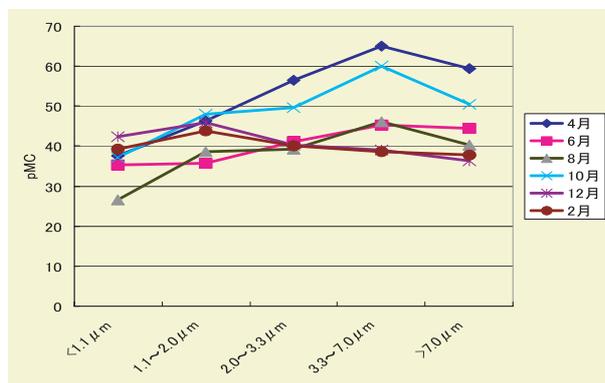


図31 都心の大気粉じん中¹⁴C濃度の粒径別季節変化

上記の季節変動のうち、8月の微粒子画分の変化はその原因がつかめていないが、4月、10月の粗粒径画分での¹⁴Cの上昇は主に花粉等の植物起源微粒子の影響と考えられる。7 μ m以上の粗大粒子画分フィルターの一部(325 μ m \times 275 μ mのエリアを5区画ランダムに選定)を走査型電子顕微鏡で精査し、花粉状の物体を計数した結果を図に、また4月の捕集フィルターの一部を図32に示す。

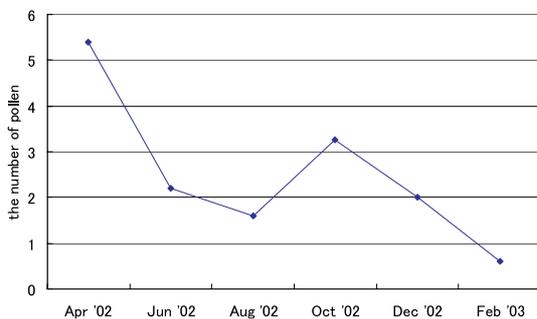


図32 走査電子顕微鏡によるフィルター上花粉状物体の計測結果

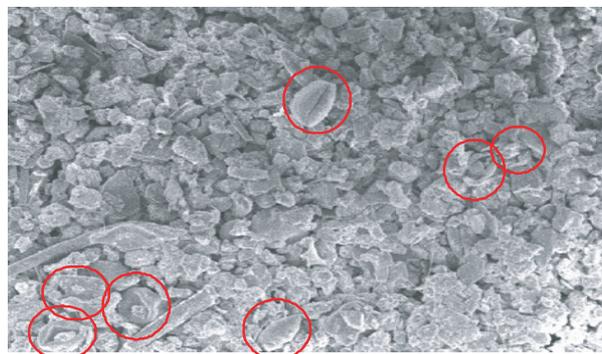


図33 4月に採取した7 μ m以上の粗大粒子フィルターのSEM像

図32に示されたように、予想通り春（4月）と秋（10月）に花粉状物体の数ピークが存在しており、これらの影響が¹⁴C測定結果に反映されていると考えて矛盾しない結果となった。4月のフィルターを調べた結果（図33のSEM像）でも、明らかに花粉と思われる物体がとらえられている。12月のフィルターには該当するものはごく少数しか認められなかった。

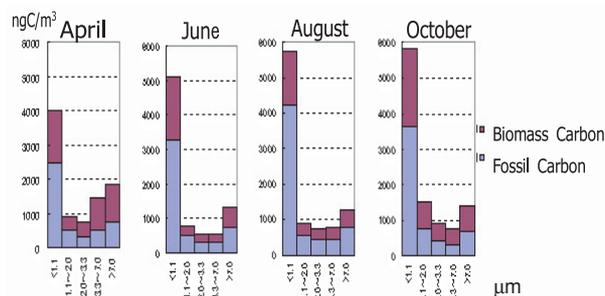


図34 粒径別捕集結果の絶対量表示と、バイオマス：化石燃料の寄与比率

なお、図34に示すように、絶対量で比較すると炭素量が多いのは1.1 μ m以下の微細粒子画分であり、その部分のバイオマス起源（=Modern Carbon）炭素の寄与率は8月の一過性の減少を除いて年間を通じてほとんど変化がない。

以上、交通量の多い道路沿道では、大気粉じん中炭素の主要発生源は予想通り自動車排ガス等化石燃料燃焼と考えられる結果となった。これに対して、東京都区内でも道路際を離れると約4割が生物ないしバイオマス燃焼起源であること、さらに田園地帯ではModern Carbonの寄与が7、8割に上ることが明らかとなった。粗大粒子画分には土壌粒子、あるいは花粉などの影響が出るものの、粒径の小さいPM_{2.5}の範囲内では粒径、季節ともに明確な変動は認められず、主として燃焼起源と考えられ

る微細粒径画分においてもバイオマス起源の寄与が比較的大きいことがわかった。これは、都市域の大気粉じん中炭素成分について自動車排ガス由来が9割とする従来の推測とは大きくずれており、生物起源あるいはバイオマス燃焼起源の部分に未把握の部分がかかなり残されていることを示しているものと考えられる。

2.2.3 大気粉じん中炭素成分の有機・無機成分への分画方法の開発、並びにそれぞれにおける¹⁴C/¹²C比の測定

微細粒径画分には燃焼起源の微粒子の凝集体のほか、生物起源の各種揮発性有機物並びにその変化物の凝集に起因する微細粒子も含まれている可能性が考えられる。自動車排ガス等化石燃料燃焼の寄与をより正確に見積もる目的で、燃焼起源の元素状炭素（すす）（EC；Elemental Carbon）画分を有機炭素（OC；Organic Carbon）から分離して¹⁴C測定を行うための手法を検討、確立し、実試料に適用してEC中の化石燃料の寄与率を見積もった。

ECとOCの分離を行うためには、（1）有機溶媒を用いてOCを選択的に除去する、（2）段階的に温度をかけて、揮発性の差を利用してOCを選択的に除去する、という2つの方法が考えられ、実践されてきている。特に有機溶媒抽出については、最近高压、高温条件下で各種環境試料から有機汚染物質を抽出するための加圧液体抽出装置（Pressurized Fluid Extraction（PFE；米国EPAの呼称）；最初に商品化された装置の名称をとってAccelerated Solvent Extraction（ASE）とも呼ばれる）が実用化され、超音波抽出やソックスレー抽出などの従来の抽出法に比べて高い抽出効率を示すことが明らかになってきている。そこで本研究では、最初にこのPFEを用いて大気粉じん中のOCとECを効率よく分離できる条件の検討を行った。なお、残存OCとECの測定には、Desert Research Institute（DRI）のModel 2001 Carbon Analyzerを使用した。これは、試料温度をあげて発生するCO₂をメタンに変換してFID検出器で連続的に監視し続ける装置で、無酸素状態でHeをキャリアとして550度までの範囲で気化する部分をOC、その後酸素を加えて800度までの範囲で気化する部分をECとし、それぞれ温度範囲によりいくつかのフラクションに分画する。昇温過程でOCの一部は揮発せず炭化してしまう（無機化する）が、その分は表面にレーザーを照射してその反射光

の変化から補正を行う。PFEにより様々な条件、溶媒で抽出した後の試料をこのCarbon Analyzerで測定し、抽出条件の検討を行った。一例を図35に示す。

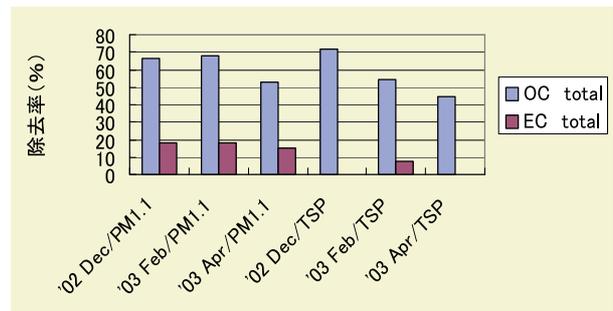


図35 PFE抽出によるOC, ECの抽出（除去）率

捕集季節の異なる3つの試料について、全粒子（TSP）並びにPM_{1.1}の2種類についてPFE抽出を行った。OCは45～70%前後の抽出率で100%には至らず、一方、ECの一部も抽出され始めていることがわかる。

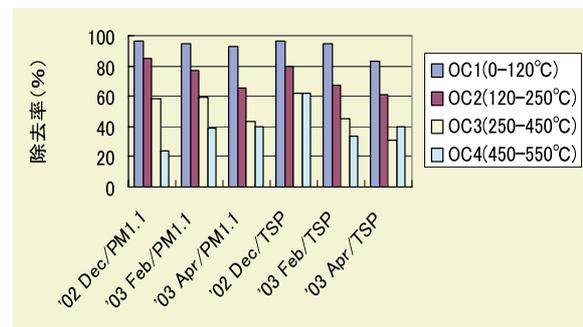


図36 OCの各画分の除去率

さらに、OCをOC1（He中120度以下で揮発する成分）、OC2（120～250度で揮発する成分）、OC3（250～450度で揮発する成分）、OC4（450～550度で揮発する成分）の4画分に分け、PFEによるそれぞれの除去率を調べた（図36）。いずれの季節でも、またTSP、PM_{1.1}を問わず、低温で揮発するOC画分の方がPFEで除去される効率が高く、OC4では20～40%程度の除去率しか達成できなかった。

以上のように、有機溶媒抽出ではOCとECの十分な分離が難しいことから、熱分離の手法そのものを使ってOCの除去を図り、EC画分の¹⁴C濃度測定を行うこととした。図37に用いた装置の概略図を示す。

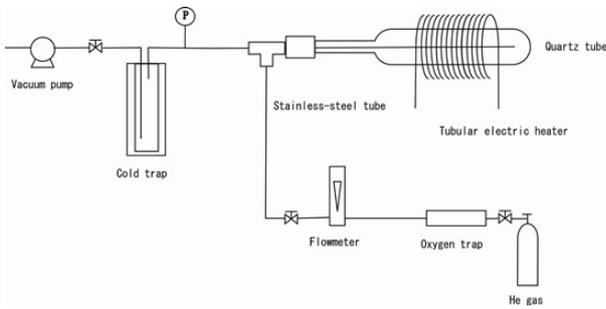


図37 熱脱離によるOCとECの分離方法

He中での熱処理温度とOC、ECの絶対量の変化との関係を図38に示す。この試料では550度までの範囲でECの減少はあまり認められないが、OCの一部がこの範囲では揮発しきれずに残っている（上）。700度以上ではOCはほとんどなくなり、ECの一部も揮散し始めている。一方、元素分析の結果ではN、Sなどのヘテロ原子は120度までにほとんどなくなり、以後550度までは炭素と水素が主成分となる（下）。700度でも水素の一部は残っており、OCの完全除去にはHe中800度の熱処理が適当と判断された。

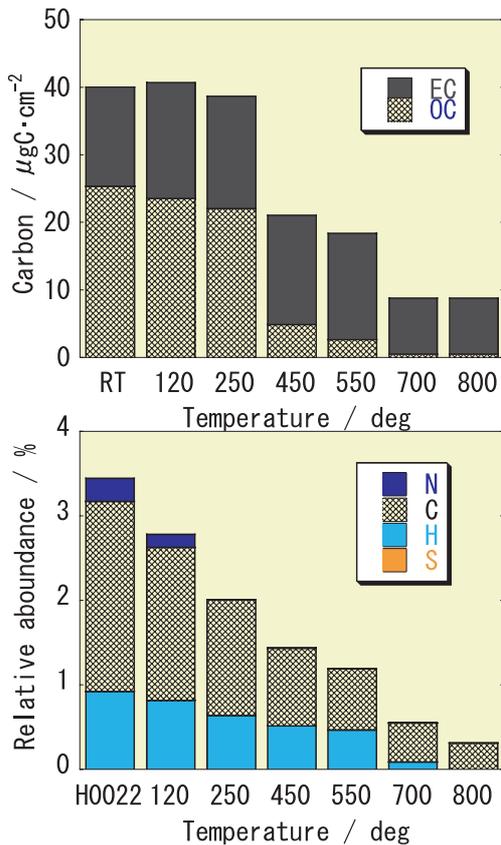


図38 無酸素状態（He中）での熱処理によるOCとECの残存状態（上）並びに元素組成（下）

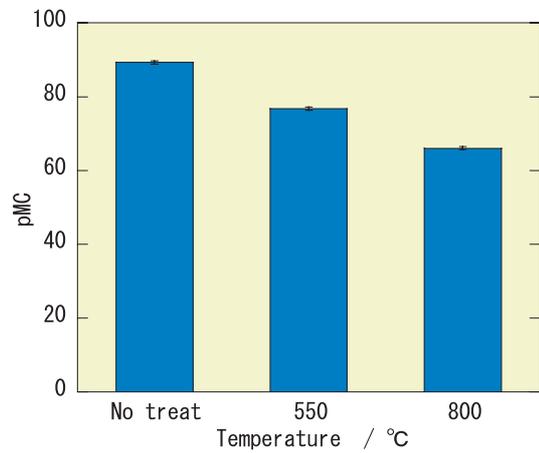


図39 大気粉じん試料の熱処理に伴う見かけの¹⁴C濃度変化

つくばの大気粉じん試料の一つをHe中で550度ないし800度に加熱処理した後で¹⁴C濃度測定を行った結果を図39に示す。加熱するほど¹⁴C濃度は下がっており、揮発性の高いOC画分の方が¹⁴C年代が新しいことを示している。同様の加熱処理による減少傾向は都区内白金台や川崎沿道の試料でも認められた。つくばと川崎のそれぞれのデータをまとめた結果を図40に示す。800度処理の結果、残渣中の¹⁴C濃度は大まかにいってそれぞれもとの3/4～2/3程度に減少した。

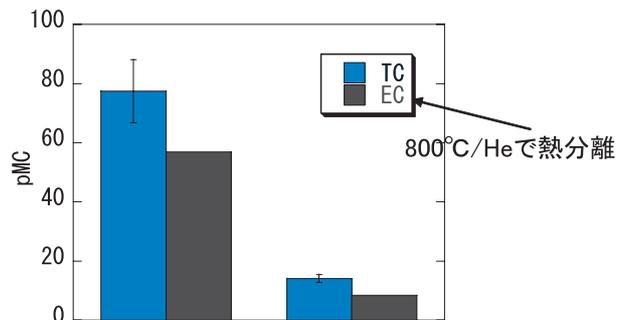


図40 つくばと川崎沿道での総炭素TC並びに元素状炭素ECの¹⁴C濃度

以上の結果から、いずれの場所でも有機炭素OC画分より燃焼起源の元素状炭素EC中の方が一般に¹⁴C濃度が低いことがわかり、燃焼起源と目されるEC部分には化石燃料の寄与がより大きいことが示された。しかしながら、交通量の多い道路の沿道ではバイオマスの寄与が1割以下にまで減少するものの、都区内でも道路から少し奥まった旧公衆衛生院屋上では3割程度の寄与が認められるなどEC中にもバイオマス燃焼の寄与がそれなりに認められた。特につくばでは5割を超えるバイオマス燃焼由来の寄与が認められる場合もあった。これらがどのような

発生源に由来しているのか、現状でははっきりしていない。バイオマス燃焼由来の寄与としては、ゴミ焼却炉からの発生のほか、農作物収穫後の藁等の焼却、河原等の野焼きや山火事などが考えられる。ゴミ焼却場から発生する炭素中の ^{14}C 濃度はかなり変動が大きい、これまでの結果を平均するとpMCとして80%程度であり、比較的 ^{14}C 濃度が高い。しかしながら、これまでの研究ではゴミ焼却場からの炭素発生量は自動車排ガスと比較して1割程度かそれ以下と考えられている。またゴミ焼却場からの寄与が特につくばで高い理由も見つからない。以上の結果は、むしろ定量的な把握の難しい収穫後残渣の焼却や野焼きなどの影響が予想以上に大きいことを示唆しているのではないかと考えられる。

2.2.4 大気粉じん中多環芳香族炭化水素の $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比測定と発生源に関する検討

ECと同じく主として燃焼起源で、かつ健康影響の観点から特に注目される大気粉じん中多環芳香族炭化水素PAHsに着目し、その ^{14}C 濃度測定を行った。

焼却過程における燃焼管理の徹底並びに処理技術の発達により、今日の日本ではPAHs濃度は過去に比べて大幅に減少してきており、AMSによる ^{14}C 年代測定を行うためにはいくつかの技術的な革新が必要となる。きわめて高感度のAMSをもってしても、 ^{14}C 年代測定には通常処理後に1mgのグラファイトが得られるような試料量を必要とするが、これだけの量の環境化学物質を分取、精製することは特定の場合を除いて不可能といつてよい。先に述べたGC-AMS研究では、こうした環境中の化学物質毎の ^{14}C 年代測定を可能とするために、通常の1/100の10 μg 炭素相当の試料の前処理技術並びに測定技術を開発、確立してきた。また、その過程で微量試料処理のために特に問題となる不純物の混入の最小化について基礎的な検討を進めた。その結果、不純物には前処理に用いる器具や装置から混入してくる一定量のコンタミに加えて、処理される試料量に比例する別のコンタミの経路があり、後者は作成するグラファイトが有する活性炭様の吸着能に起因することなどを明らかにし³³⁾、その結果を生かして従来の前処理過程でのコンタミレベルを1桁以上低減することに成功した³⁴⁾。本研究では、こうした技術革新の上になつて大気粉じん中に存在するPAHsの捕集と測定にチャレンジしたが、それでも月単位の捕集を必要とすることが想定されたことから、都心に比較的近いとこ

ろで近くに特定の発生源がなく長期にわたる捕集装置の維持管理に適当な共同研究先のキャンパス内で採取を実施した。

試料は八王子市にある東京農工大学野外実験施設で、ハイボリュームサンプラー並びにアンダーセンサンプラーを用いてそれぞれPM₁₀及びPM_{1.1}（カットオフ粒径としてそれぞれ10 μm 以下、並びに1.1 μm 以下）を採取した。フィルターは回収率チェック用の内標として重水素ラベルした*p*-Terphenyl-d14を添加したあと、PFE（ASE-100、ダイオネクス）を用いてトルエン：メタノール（1：6，v/v）で抽出し、0.05M KOH/methanolで2時間還流してけん化した。その後、中性脂溶性画分をジクロロメタン/ヘキサン（10：1，v/v）で抽出し、シリカゲルカラムを用いて鎖状/環状炭化水素画分をヘキサンで溶出したあと、*n*-ペンタン：ジメチルフォルムアミド（DMF）分配を行って芳香族炭化水素画分をアルカン類から分離した。PAHs画分に含まれる化合物はGC/MSで確認を行ったあと、分取キャピラリーガスクロマトグラフ³⁵⁾（PCGC；Agilent GC6890+Gerstel PFC）を用いて分取、精製を行い、各精製画分の純度はGC-FIDで確認した。なお、残念ながら試料中各PAH化合物濃度が少なかったため、図41に示すように、実際には環数の同じ複数の化合物を組み合わせる必要量を確保した上で、以後の前処理、 ^{14}C 測定を行った。

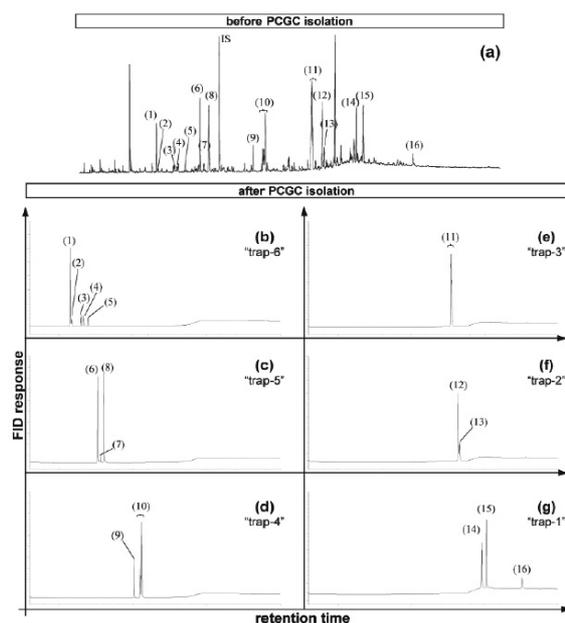


図41 粗PAHs画分及び各分取画分のクロマトグラム

表14 PCGC分離後の各フラクション中のPAHs

画分	化合物名
6	Phenanthrene, anthracene, 3-/2-methylphenanthrene, 9-/1-methylphenanthrene, 2-phenylnaphthalene
5	Fluoranthene(Fl), acephenanthrylene, pyrene(Py)
4	Benzo[ghi]fluoranthene, cyclopenta[cd]pyrene / benz[a]anthracene / chrysene / triphenylene
3	Benzo[b]fluoranthene, benzo[j]fluoranthene, benzo[k]fluoranthene
2	Benzo[c]pyrene, benzo[a]pyrene
1	Indeno[1,2,3-cd]pyrene(IP), benzo[ghi]perylene(BgP), coronene

DMP : dimethylphenanthrene

PAHsのうち、いくつかの化合物の比がその発生源あるいは履歴を表す指標として使われている。特に燃焼起源については、Fl/ (Fl+Py), IP/ (IP+BGP), 1,7-DMP/ (1,7-+2,6-DMP) (表14参照) の3種類の比が、それぞれ石油ないし自動車燃焼起源か、それともバイオマスないし石炭または木材燃焼起源のいずれが主かを表す指標として提案されている²³⁾が、今回の結果は、いずれの指標でも石油燃焼とバイオマス(木材、あるいは石炭)燃焼の両方の寄与があると考えられる結果となった。

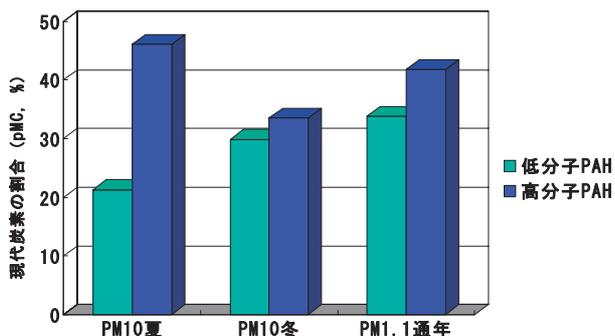


図42 PM10及びPM1.1のPAHs中¹⁴C濃度

実際に¹⁴C濃度を測定した結果を図42に示す。ここで低分子とは環数が4以下、高分子とは5, 6環のもの合計で、具体的な主成分化合物としては、低分子PAHs画分(LMW)がphenanthrene, fluoranthene, pyrene, chrysene, triphenylene, 高分子PAHs画分(HMW)がbenzofluoranthene類とbenzopyrene類などである。どの試料においても低分子PAHsの方が¹⁴Cレベルが多少低めの傾向を示すものの、全体的にPAHsのうち3割ないし

それ以上はバイオマス起源であることが示されたと言える。これはバイオマス(木材)ないし石炭からの寄与を示す上記のPAHs比の結果と整合的であり、またこれまでの粒径別並びにEC測定結果とも矛盾しない。

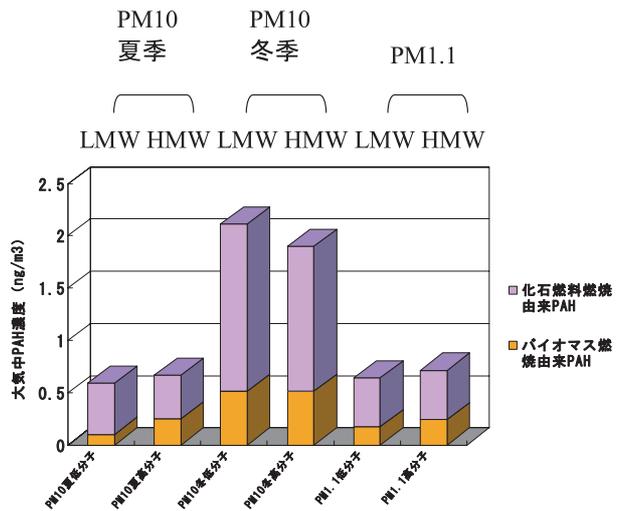


図43 大気中PAHsの絶対量で表したバイオマス由来の割合

この結果を大気中のPAHsの絶対量で表示し直した結果を図43に示す。PM₁₀では夏季(4~9月)に比較して冬季(12~3月)の方がPAHs濃度が3倍ほど高かった。PM_{1.1}の方は量が少ないためすべての採取試料をあわせて処理しており、¹⁴C濃度の季節変化はわからないが、PAHsの総濃度は採取時期毎に調べられている。これを比較する限りではPM₁₀と同様にPM_{1.1}でも冬季の方が高くなっており、また夏季、冬季を問わず同じ時期に採取したPM₁₀の約8割相当がPM_{1.1}画分に含まれていた。PM_{1.1}の結果はPM₁₀と類似しており、PM₁₀のPAHsの解析から燃焼起源の微細粒径画分のだいたいの様子がわかると考えて良いと考えられる。

本研究を開始する前に、皇居のお堀の底質コアの中のPAHs画分の測定を実施した³²⁾。お堀には流入河川はなく、お堀の底質に堆積しているPAHsは主に大気から降下してきたものと考えられる。¹⁴C濃度は全体的に低かったが、数十年程度の年代幅をもつコアを上中下の3層に分けて分析した結果では、PAHs濃度が近年にむけて次第に減少している一方で¹⁴C濃度はpMCとして10から20%程度に増加している様子が認められた。これは、利用燃料の石炭から石油への変化並びに燃焼技術の向上などによって化石燃料起源のPAHsの生成量が減った一方、バイオマス燃焼起源のPAHsの削減が遅れていることを

示しているのではないかと考えられた。20%pMCというお堀の底質の測定結果は最近10～20年の平均値であり、データから読み取れる増加傾向を勘案すると、30%pMC程度という現在の大气粉じん中の測定結果はお堀のデータと矛盾するものではなく、むしろ整合的とも言える。以上の結果は、東京という大都市近郊の現在の平均的な状況として、燃焼起源で大气中に存在するPAHsの3割程度がバイオマス燃焼起源であることを示す結果と考えられ、公衆衛生院屋上で捕集した大气粉じん中ECの値とも調和的であった。

2.2.5 まとめ

特に都市域の大气質に与える燃焼起源の炭素負荷の様子を明らかにするために、(1) 燃焼起源物質の多い微細粒径画分 (PM1.1) を中心とする粒径別分布の測定、(2) 燃焼起源に由来すると考えられる元素状炭素 (EC) 画分と有機成分 (OC) とを分離した測定、(3) 同じく燃焼起源と考えられる大气粉じん中多環芳香族炭化水素PAHs化合物群の測定、の3種類の¹⁴C測定を実施し、これらの画分における化石燃料燃焼起源とバイオマス燃焼起源の割合を求めた。交通量の多い道路の沿道ではバイオマスの寄与は1割程度で、大半が自動車排ガス起源と考えて調和的な結果であった。一方、都区内でも道路際から離れた地点ではPM1.1、ECともにバイオマス起源が3～4割程度という結果となり、意外にバイオマス燃焼起源の多いことが明らかとなった。さらに、八王子市で採取した大气粉じん中PAHsもpMCとして20～40%程度となり、上記のPM1.1やECとも類似する結果となったほか、都心のお堀の底質コアの最上層から抽出、精製されたPAHsの¹⁴C測定結果 (最近10～20年の平均値) とも調和的であった。これに対して、田園に囲まれた地方都市であるつくばでは、全炭素で約8割、うちEC画分で約6割がバイオマス燃焼起源という結果となった。

¹⁴Cを含む燃焼起源炭素の主要な発生源としては、廃棄物焼却、農作物収穫後の残渣焼却、河原などでの野焼き、たき火やキャンプファイヤー、山火事、調理過程での油や食品由来の煙、たばこなどが考えられる。東京都環境科学研究所において行われたCMB法による浮遊粒子状物質の発生源推定によれば³⁶⁾、SPMに対する廃棄物焼却の負荷はディーゼル車の1/10以下であり、さらに炭素の含有量の差を考慮すると、炭素源としては廃棄物焼却は無視できるレベルと推定される。一方、想定した発生源で

説明できない部分もかなり多く残されており、推定条件にもよるが、いずれの場合も最も大きいディーゼル車負荷の半分から同等レベルの負荷が不明発生源とされている状況である。今回の測定の結果、東京の大气の浮遊粒子状物質に含まれる炭素の3～4割程度がバイオマス燃焼起源であることがわかったが、CMB法による解析結果とつきあわせるとその主要発生源は廃棄物焼却以外の不明な発生源に求めざるをえないと考えられた。

大气粉じん中の¹⁴C測定で先行しデータの多い米国と比較すると、(1) ゴミの埋立処分地不足から、日本の場合一般家庭ゴミは焼却・減量が通例であるのに対して、米国では焼却は少ない、(2) 米国では地域により家庭の冬の暖房に薪が多く使われるのに対して、日本では石油、天然ガス、電気が中心で薪などバイオマス燃焼は少ない、(3) 農作物収穫後の藁などの処理について、日本では焼却処理が比較的多いと想像されるのに対して米国では飼料利用も多いと推定される、といった違いがある。上記のように、(1) の違いについてはいずれにしても¹⁴C測定結果にほとんど影響がないと考えられるので無視し、(2) を考慮しつつ、上記の東京周辺の結果と文献に報告されている米国の都市域の結果とを比較してみよう。例として、1955年²⁸⁾ に初めてエアロゾルの¹⁴C測定データが出されたロサンゼルスにおける1980年代はじめの測定結果並びに発生源推定結果に関する報告³⁷⁾ を取り上げる。1955年の報告では、実際の採取は1954年10月中旬から下旬にかけて2回にわけてBrookside公園で行われた。この時の¹⁴Cレベルはいずれも現代炭素レベルの約1/4と報告されている。一方、1994年の報告では炭素を含む主な発生源15種類について¹⁴C濃度測定を行った上で、1982年の毎月の測定データについて大气輸送のモデルを使いながら各発生源からの寄与の推定の妥当性を検証している。1982年の測定結果では、Azusa地区で現代炭素の寄与が20～35% (冬期の方が夏期より高い)、Long Beachでは32～43% (あまり明確な季節変動を示さない) であった。ロサンゼルス周辺80km×80kmのエリアでの現代炭素発生量は11,100kg/day (夏期) ～23,400kg/day (冬期) と見積もられたが、変動要因として大きいのは暖炉燃焼 (夏期410kg/day、冬期12,620kg/day) で、他はあまり年間変動がなく、肉の調理で6,480kg/day、舗装道路のほこりが2,520kg/day、たばこから810kg/dayなどとなっている。一方、コロラド州デンバーでの測定では、ロサンゼルスと逆に夏期に¹⁴C濃度が高く冬期に低い傾向を示

し、特に夏期には一過性の¹⁴Cの上昇（pMCとして70%程度まで）が認められたと報告されている³⁸⁾。夏期の¹⁴C濃度の増加について原因確定にはいたっていないが、可能性として森林火災あるいは農作物の焼却などがあげられている。また、植物由来VOCの光化学反応生成物などの寄与も考えられよう。

日本の場合は暖炉燃焼の寄与は小さいと考えられ、代わりに野焼きや農業関連の寄与の大きさがどの程度なのか注目される。米国のデータでは都市域で調理由来の発生源が大きく推測されていることが目を引くが、国内の状況がどうなのか、今後信頼できる発生源情報の積み上げが必要と考えられる。いずれにしても、今回の測定結果から、日本の都下の大気粉じん中炭素は、上記の米国の都市域のデータと同様の¹⁴C濃度レベルにあることが明らかになった。特にEC並びにPAHsそのもののデータが取得でき、同様の¹⁴C濃度レベルにあることがわかったことから、燃焼起源としてこれまでに量的に未把握のバイオマス関連の発生源が無視できないレベル残されていることが明らかとなった。大気環境のさらなる改善にむけて、今後これらの未把握部分の解明を進め、その発生源を特定して必要な対策立案につなげていくことが重要な課題と考えられる。また、調理や野焼きを候補として考えた場合、これらの未把握部分は有機炭素OCについても大きな発生源になっている可能性がある。今回の研究では燃焼起源の非意図的生成物質に注目したためOC部分の単離は特に行っておらず、OC画分の¹⁴C濃度を直接測定することはできていない。しかしながら、OC除去で残ったECの¹⁴Cレベルが総炭素と比較して下がることからみて、OC画分にバイオマス燃焼ないし植物等からのVOCの寄与がかなりあることは確かと思われる。光化学スモッグ問題などの解決にむけて、このOC画分のキャラクターゼーション並びに削減方策の立案、実施も重要な意義を持っており、今後の重要な研究課題と考えられる。

2.3 まとめ

POPsに対する全球的な取り組みを規定する国際条約であるストックホルム条約には、条約対象物質の新規登録の仕組み、並びに環境モニタリングによる条約有効性評価の条文が刻まれている。本研究では、ストックホルム条約に規定された12種類のPOPs以外の物質で同様の性質を持ち、取り組み優先順位が高いと思われる物質（意図的生成物質からはPFOS並びに類縁の有機フッ素系界面活性剤、非意図的生成物質からは多環芳香族炭化水素PAHs）を選び、削減のための効果的な対策立案並びに有効性評価への貢献を意識しつつ研究を進めた。

PFOS並びに類縁の有機フッ素系界面活性剤については、日本の汚染状況の把握並びに主な環境放出ルートの把握につながる情報取得を目的としつつ、既存の情報の整理、分析法の検討・確立、東京都下の河川、下水の測定、並びに二枚貝を使った全国沿岸域の汚染実態の解明を進めた。また、環境モニタリングへの応用を意識した曝露マーカーの探索、並びに汚染除去等への応用を意識した光分解条件の検討を行った。さらに、他の研究との共同実験で、投与実験動物における脳への移行に関する基礎情報を取得した。その結果、以下のことが明らかとなった。

- i) PFOSとPFOAは、用途の違いに対応して発生源も一般に異なるケースが少なくない
- ii) 通常の下処理ではPFOSはあまり除けず一般環境中に出て行く
- iii) PFOAの方が操作ブランクが高く、身の回りの汚染が進んでいる様子が認められる
- iv) 二枚貝中ではPFOS、PFOA等はフリー以外の何らかの誘導体の形で存在しており、従来法では総濃度を正確に測れない
- v) 二枚貝への濃縮係数はPFOSが700、PFOAは10程度と2桁近く異なるが、日本沿岸での実際の蓄積レベルは同程度であり、水中濃度はPFOAの方が高いものと考えられる
- vi) 都下でも全国規模でも少数の目立つ発生源が存在し、全体を支配する傾向が認められる
- vii) PFOA以外にも炭素数のより長いパーフルオロアルキルカルボン酸が二枚貝から検出され、これら有機フッ素系界面活性剤の全国の分布パターンは少なくとも3種類に大別できる

viii) PFOA曝露メダカの腭肝臓には、Nucleotide diphosphate kinaseと相同な配列を持つタンパクが特異的に誘導される

ix) PFOSは投与マウスの脳血液関門を通過して脳に肝臓の1/100程度のレベルで存在し、投与量を増やすにつれ脳内相対比率が高まる

x) PFOSは水、イソプロパノール中で紫外線で分解され、水素を含む低分子フッ素化合物を生成する

最大手の製造中止後も、少数ながら国内にはPFOSの目立つ発生源がいくつか残されている様子が明らかとなった。これらの有機フッ素系界面活性剤については極めて多種類の発生源が想定され、面的な放出を予想していたが、PFOSの実際の環境中への放出は比較的少数の排出源からのものが支配的で、これらの特定と対策によって比較的効率のよい排出抑制が見込まれる。一般の下水処理では除去が困難であることも明らかとなったが、少数の発生源であれば米国の製造工場で行われているような吸着処理法も適用可能であろう。また、紫外線分解も可能であることが示され、今後の実用化にむけた研究推進が期待される。一方、PFOAについては生物濃縮係数は低いものの、より広い発生源、汚染源の存在が示された。さらにこれら以外に炭素数のより長い有機フッ素系界面活性剤も同程度の濃度レベルで二枚貝中に見つかり、様々な種類の有機フッ素系界面活性剤が製造、使用され、環境中に放出されている様子が明らかになってきた。これらの長鎖パーフルオロアルキルカルボン酸関連の情報は少なく、また毒性研究も遅れているが、例えばC8のPFOAと比較してC10のPFDAの方がペルオキシゾームの増殖誘導能が高いこと、また同様に鎖の長い方が生物濃縮係数も高い可能性があることから、PFOA同様あるいはそれ以上に注意して監視を行う必要があるのではないかと考えられる。

これらの毒性については米国での研究が先行しており、脂肪酸代謝系への作用など毒性メカニズムに関する研究も進み始めている。本研究では毒性研究は直接の対象としていないが、研究進行の過程で行った共同研究の結果、PFOSがわずかながら血液脳関門を通過して脳内に入ること、その比率は投与量が増えると増加する傾向があることを明らかにすることができた。

一方、大気粉じん並びにPAHsに関する¹⁴C測定から、主に燃焼起源と目されるこれらの非意図的生成物質の主

な発生源を探ることができた。交通量の多い道路沿道では大気粉じん中炭素成分はほとんどが自動車排出起源と考えられる結果となったが、都心でも道路沿道を離れると燃焼由来炭素成分の3～4割程度がバイオマス起源であることが明らかとなった。八王子で採取された大気粉じん中PAHsも3割程度のバイオマス起源を持ち、都心のお堀の底質中にたまったPAHsの測定結果とも大きくは矛盾しない。さらに地方都市のつくばでは、燃焼起源の元素状炭素EC中のバイオマス起源の割合は6割に達した。こうしたバイオマス起源の燃焼生成炭素の具体的な由来については、現時点では十分な定量的情報が得られていないが、これらは有機炭素OCへも寄与している可能性があり、大気汚染状態をさらに改善していく上で、自動車排ガス起源等の化石燃料燃焼起源の削減に加え、これらバイオマス起源の燃焼生成物の主な発生源の特定と削減への取り組みも今後の重要な課題と考えられる。

引用文献

- 1) 「フッ素化学入門」三共出版, 447p. (2004)
- 2) Kissa E. (1994) Fluorinated surfactants and repellents, 2nd Revised and Expanded, Marcel Dekker, 615p.
- 3) 3M, “Sulfonated Perfluorochemicals in the Environment: Sources, dispersion, fate and effects”, US EPA, OPPT-2002-0043-0005 (2002)
- 4) “Revised draft hazard assessment of perfluorooctanoic acid and its salts”, US EPA, OPPT-2003-0012-0011 (2003)
- 5) 「フッ素とわが社」, 化学工業日報社, 340p. (2006).
- 6) “Re: phase-out plan for POSF-based products”, a reply letter from Mr. W.A. Weppner, 3M, to Mr. Charles Auer, EPA, US EPA OPPT-2002-0043-0009 (2002)
- 7) “Hazard assessment of perfluorooctafone sulfonate (PFOS) and its salts”, OECD ENV/JM/RD (2002)17/FINAL (2002)
- 8) Renner R. (2001) Environ. Sci. Technol., 35, 154A-160A.
- 9) Taniyasu S., Kannan K., Horii Y., Hanari N., Yamashita N. (2003) Environ. Sci. Technol., 37, 2634-2639.
- 10) Harada K., Saito N., Inoue K., Yoshinaga T., Watanabe T., Sasaki S., Kamiyama S., Koizumi A. (2004) J. Occup. Health, 46, 141-147.
- 11) Inoue K., Okada F., Ito R., Kato S., Sasaki S., Nakajima S., Uno A., Saijo Y., Sata F., Yoshimura Y., Kishi R., Nakazawa H. (2004) Environ. Health Perspect., 112, 1204-1207.
- 12) Inoue K., Okada F., Ito R., Kawaguchi M., Okanouchi N., Nakazawa H. (2004) J. Chromatogr., B, 810, 49-56.
- 13) 「農薬要覧」, (社)日本植物防疫協会 (2002)
- 14) Moody C.A., Hebert G.N., Strauss S.H., Field J.A. (2003) J. Environ. Monit., 5, 341-345.
- 15) “The science of organic fluorochemistry”, 3M (1999), US EPA OPPT-2002-0043-0006 (2002)
- 16) “Fluorochemical use, distribution and release overview”, 3M (1999), US EPA OPPT-2002-0043-0008 (2002)
- 17) “Letter from the Semiconductor Industry Association (SIA) and Semiconductor Equipment and Materials International (SEMI) to EPA -- with attachments”, US EPA, OPPT-2002-0043-0022 (2002)
- 18) kannan K., Tao L., Sinclair E., Pastva S.D., Jude D.J., Giesy J.P. (2005) Arch. Environ. Contam. Toxicol., 48, 559-566.
- 19) 3M, “Perfluorooctane Sulfonate: Current summary of human sera, health and toxicology data”, US EPA OPPT-2002-0043-0007 (2002)
- 20) Hori H., Hayakawa E., Einaga H., Kutsuna S., Koike K., Ibusuki T., Kitagawa H., Arakawa R. (2004) Environ. Sci. Technol., 38, 6118-6124.
- 21) 秋元 肇, 河村公隆, 中澤高清, 鷲田伸明 編「対流圏大気の化学と地球環境」学会出版センター (2002)
- 22) Wayne R.P. (2000) Chemistry of the Atmospheres, 3rd, Oxford Univ. Press.
- 23) Yunker M.B., Macdonald R.W., Vingarzan R., Mitchell R.H., Goyette D., Sylvestre S. (2002) Org. Geochem., 33, 489-515.; Benner B.A. Jr., Wise S.A., Currie L.A., Klouda G.A., Klinedinst D.B., Zweidinger R.B., Stevens R.K., Lewis C.W. (1995) Environ. Sci. Technol., 29, 2382-2389.
- 24) Norman A.L., Hopper J.F., Blanchard P., Ernst D., Brice K., Alexandrou N., Klouda G. (1999) Atmos. Environ., 33, 2807-2814.
- 25) Currie L.A. (1999) Proc. Inter. Symposium AMS, NIES, 1-23.; Currie L.A., Klouda G.A., Klinedinst D.B., Sheffield A.E., Jull A.J.T., Donahue D.J., Connolly M.V. (1994) Nucl. Instrum. Meth. B, 92, 404-409.
- 26) Libby W.F. (1946) Phys. Rev., 69, 671-672.
- 27) Suess H. (1955) Science, 122, 415-417.
- 28) Clayton G.D., Arnold J.R., Patty F.A. (1955) Science, 122, 751-753.
- 29) Eglinton T.I., Aluwihare L.I., Bauer J.E., Druffel E.R.M., McNichol A.P. (1996) Anal. Chem., 68, 904-912.
- 30) Shibata Y., Kume H., Tanaka A., Yoneda M., Kumamoto Y., Uehiro T., Morita M. (1997) Nucl.

Instrum. Meth. B, 123, 554-557.

- 31) 米田 穰, 内田昌男, 廣田正史, 柴田康行 (2004) ぶんせき, 8, 473-478.
- 32) Kanke H., Uchida M., Okuda T., Yoneda M., Takada H., Shibata Y., Morita M. (2004) Nucl. Instrum. Meth. B, 223-224, 545-554.
- 33) Yoneda M., Shibata Y., Tanaka A., Uehiro T., Morita M., Uchida M., Kobayashi T., Kobayashi C., Suzuki R., Miyamoto K., Hancock B., Dibden C., Edmonds J.S. (2004) Nucl. Instrum. Meth. B, 223-224, 116-123.
- 34) Uchida M., Shibata Y., Yoneda M., Kobayashi T., Morita M. (2004) Nucl. Instrum. Meth. B, 223-224, 313-317.
- 35) Uchida M., Shibata Y., Kawamura K., Kumamoto Y., Yoneda M., Ohkushi K., Harada N., Hirota M., Mukai H., Tanaka A., Kusakabe M., Morita M. (2001) Radiocarbon, 43, 949-956.
- 36) 鎌滝裕輝, 秋山 薫, 渡辺琢美, 石井康一郎, 塚田泰久, 風間秀泰, 吉野 昇 (1995) 東京都環境科学研究所年報, 18-26.
- 37) Hildemann L.M., Klinedinst D.B., Klouda G.A., Currie L.A., Cass G.R. (1994) Environ. Sci. Technol., 28, 1565-1576.
- 38) Klinedinst D.B., Currie L.A. (1999) Environ. Sci. Technol., 33, 4146-4154.

[資料]

I 研究の組織と研究課題の構成

1 研究の組織

[A 研究担当者]

化学環境研究領域

領域長	柴田康行
上席主席研究員（計測管理研究室）	田邊 潔
計測管理研究室	高澤嘉一 平林幹啓
動態化学研究室	米田 穰 鶴野 光
生態化学研究室	John S. Edmonds 岩根泰蔵

循環型社会形成促進・廃棄物研究センター

センター長	酒井伸一
循環資源・廃棄物試験評価研究室	野馬幸生 山本貴士
循環技術システム研究室	後藤純雄
化学物質リスク研究センター	
健康リスク評価研究室	青木康展

[B 客員研究員]

鈴木 亮	((株) 環境研究センター)	(平成15～17年度)
廣田正史	((株) 環境研究センター)	(平成15～17年度)
吉兼光葉	((株) 環境研究センター)	(平成15～17年度)
小林利行	((株) 伯東)	(平成15～17年度)
佐々木裕子	(東京都環境科学研究所)	(平成15～17年度)
西野貴裕	(東京都環境科学研究所)	(平成15～17年度)
吉永 淳	(東京大学新領域創成科学研究科)	(平成15～17年度)
柴田 健	(東京大学新領域創成科学研究科)	(平成15年度)
村本 敦	(東京大学新領域創成科学研究科)	(平成16年度)
内田昌男	(海洋研究開発機構)	(平成15～17年度)
熊田英俊	(東京薬科大学)	(平成17年度)

2 研究課題と担当者 (*客員研究員)

(1) サブテーマ1 有機フッ素系界面活性剤に関する研究

1-1 生産量と主な用途

柴田康行, John S. Edmonds, 高澤嘉一

1-2 水環境中PFOS等の分析

高澤嘉一, 岩根泰蔵, 柴田康行, 吉兼光葉*, 西野貴裕*, 佐々木裕子*, 山下貴士

1-3 二枚貝中PFOS等の分析

柴田康行, 吉兼光葉*, 高澤嘉一

1-4 暴露指標バイオマーカーたんぱく質の同定

青木康展

1-5 PFOSの光分解

野馬幸生, 山本貴士, 酒井伸一

(2) サブテーマ2 放射性炭素測定による, 大気粉塵中燃焼生成炭素成分ならびにPAHsのSource Apportionment

2-1 粒径別の分析

吉永 淳*, 柴田 健*, 村本 敦*, 後藤純雄, 田辺 潔, 平林幹啓, 鈴木 亮*,
鶴野 光, 小林利行*, 米田 穰, 柴田康行

2-2 EC-OC分離

田辺 潔, 平林幹啓, 吉永 淳*, 柴田 健*, 村本 敦*, 鈴木 亮*, 鶴野 光,
小林利行*, 米田 穰, 柴田康行

2-3 PAHsの分析

熊田英俊*, 内田昌男*, 小林利行*, 柴田康行

II 研究成果発表一覧

1 誌上発表

(査読付)

発表者・題目・掲載誌・巻(号)・頁・刊年

- Endo M., Yamamoto N., Yoshinaga J., Yanagisawa Y., Endo O., Goto S., Yoneda M., Shibata Y., Morita M.: ^{14}C measurement for size-fractionated airborne particulate matters, *Atmos. Environ.*, 38: 6263-6267, 2004
- Shibata K., Endo M., Yamamoto N., Yoshinaga J., Yanagisawa Y., Endo O., Goto S., Yoneda M., Shibata Y., Morita M.: Temporal variation of radiocarbon concentration in airborne particulate matter in Tokyo, *Radiocarbon*, 46: 485-490, 2004
- Kumata H., Uchida M., Sakuma E., Uchida T., Fujiwara K., Tsuzuki M., Yoneda M., Shibata Y.: Compound Class Specific ^{14}C Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Associated with PM10 and PM1.1 Aerosols from Residential Areas of Suburban Tokyo, *Environ. Sci. Technol.*, 40: 3474-3480, 2006, DOI: 10.1021/es052407f
- Yoshikane M., Takazawa Y., Tanaka A., Komori S., Kobayashi M., Kanda Y., Jahan N., Shibata Y.: Concentration of perfluorochemicals in bivalves in Japan by strong alkaline digestion method, *Organohalogen Compd.*, 68: 2063-2066, 2006
- Muramoto A., Yoshinaga J., Yamamoto N., Endo O., Hirabayashi M., Tanabe K., Yoneda M., Shibata Y.: Did Diesel Vehicle Regulation of Tokyo Affect $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ of Atmospheric Particles?, submitted to *Radiocarbon*
- Yoneda M., Uno H., Tanaka A., Uehiro T., Suzuki R., Kobayashi T., Kobayashi C., Uchida M., Shibata Y., Morita M.: Status and plans for AMS at NIES-TERRA, submitted to *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res.*
-

(査読なし)

発表者・題目・掲載誌・巻(号)・頁・刊年

- 内田昌男, 柴田康行: 有機分子レベル放射性炭素同位体と地球化学への応用, *地質ニュース*, (585) : 30-36, 2003
- 柴田康行: 加速器質量分析法の環境研究への応用 - GC-AMSの試み -, 応用加速器及び関連技術定例研究会資料集, 4 : 7-12, 2003
- 柴田康行: 加速器質量分析法の環境研究への応用, 平成15年度日本分光学会春季講演会要旨集, 34-39, 2003
- 柴田康行: 生体および環境中における微量成分の超高感度追跡手法の開発 - クロマトグラフィーと加速器質量分析法の組み合わせ利用 -, *Isotope News*, (594) : 6-9, 2003
- 高澤嘉一, 柴田康行: 残留性有機汚染物質の分析, *ぶんせき*, (2), 94-100, 2004
- 米田 穰, 内田昌男, 廣田正史, 柴田康行: 加速器質量分析法による環境試料の分析, *ぶんせき*, (8) : 473-478, 2004
- 柴田康行: 一般環境中の化学物質の分析について, *保健医療科学*, 54 : 17-21, 2005
-

2 口頭発表

発表者・題目・学会等名称・開催都市名・年月

- Shibata K., Endo M., Yamamoto N., Yoshinaga J., Yanagisawa Y., Endo O., Goto S., Yoneda M., Shibata Y., Morita M.: Temporal variation of radiocarbon concentration in airborne particulate matter in Tokyo, 18th Int. Radiocarbon Conf., Wellington(New Zealand), 2003.9
- Kanke H., Uchida M., Okuda T., Takada H., Yoneda M., Shibata Y.: Source apportionment of sedimentary PAHs in an urban reservoir by combined compound-specific radiocarbon analysis and petroleum-biomarker analysis, 13th Ann. V.M. Goldschmidt Conf., Kurashiki, 2003.9
- 菅家博英, 内田昌男, 奥田知明, 高田秀重, 米田 穰, 柴田康行: 分子レベル放射性炭素同位体比の測定による多環芳香族炭化水素の発生源の推定, タンデム加速器研究会, 千葉, 2004.7
- 佐久間英介, 内田昌男, 熊田英峰, 近藤美由紀, 小泉 博, 柴田康行: 分子レベル¹⁴C測定による都市大気エアロゾル中多環芳香族炭化水素の起源推定, 2004年度日本地球化学会年会, 静岡, 2004.9
- 平林幹啓, 松尾基之, 柴田 健, 村本 淳, 吉永 淳, 小林伸治, 田邊 潔, 柴田康行, 鈴木 亮, 小林利行: 有機炭素・無機炭素別放射性同位体比に基づく大気浮遊粉じん中炭素成分の由来の検討, 2004年度日本地球化学会年会, 静岡, 2004.9
- Shibata Y.: Analysis of POPs-related chemicals in the environment, UNU Int. Conf. "Ecosystem Impacts of POPs", Bangkok, 2005.4
- 野馬幸生, 山本貴士, 黄 瑛, 柴田康行, 酒井伸一: パーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) の光分解について, 第14回環境化学討論会, 大阪, 2005.6
- 柴田康行: 捨てる主義, 捨てない主義-環境モニタリングと試料長期保存の役割-, 愛媛大学es-Bank記念シンポジウム, 愛媛, 2005.12
- 柴田康行: 年代を測る -放射性炭素測定から見えてくる環境の姿-, 第15回環境化学討論会, 仙台, 2006.6
- Shibata Y.: Radiocarbon analysis by Accelerator Mass Spectrometry for Source Apportionment of Environmental Pollutants, SETAC Asia Pacific, Beijing, 2006.9
- Shibata Y.: AMS application to environmental research, 国立環境研究所加速器MS設立10周年記念シンポジウム, つくば, 2006.9
- 柴田康行: 化学物質汚染への取り組みに関する話題-残留性有機汚染物質 (POPs) への取り組み-, -PFOS他有機フッ素化合物の汚染実態-, 東京都環境科学研究所セミナー, 東京, 2006.12
- Takazawa Y., Nishino T., Iwane T., Sasaki Y., Shibata Y., Morita M.: Perfluorooctane sulfonate found in river water from the Tokyo metropolitan area, China-Jpn. Jt. Symp. Environ. Chem., Beijing, 2004.10
- Yoshikane M., Takazawa Y., Tanaka A., Horiguchi T., Shibata Y.: Concentration of perfluorochemicals in the ESB (Environmental Specimen Banking) samples, Int. Environ. Specimen Bank Symp., Charleston, 2005.11
- 高澤嘉一, 柴田康行: 東京都内PFOS汚染の汚染実態, 第25回地方環境研究所と国立環境研究所との協力に関する検討会, つくば, 2006.2
- 西野貴裕, 大庭智弘, 佐々木裕子, 高澤嘉一, 柴田康行: 都内水環境におけるPFOSの汚染実態, 第15回環境化学討論会, 仙台, 2006.6, 同講演要旨集, 462-463
- Yoshikane M., Takazawa Y., Tanaka A., Komori S., Kobayashi M., Kanda Y., Jahan N., Shibata Y.: Concentration of perfluorochemicals in bivalves in Japan by strong alkaline digestion method, 26th Int. Symp. Halogenat. Persistent Org. Pollut. (Dioxin 2006), Oslo, 2006.8
- 平林幹啓, 松尾基之, 吉永 淳, 小林伸治, 田邊 潔, 柴田康行: 大気粉じん中有機炭素成分および元素炭素成分の放射性炭素濃度測定, 日本分析化学会第53年会, 千葉, 2004.9
- 村本 淳, 山本尚理, 吉永 淳, 平林幹啓, 遠藤 治, 長谷川就一, 田邊 潔, 後藤純雄, 柴田康行: ディーゼル車規制による大気粉塵中炭素起源組成への影響-放射性炭素同位体比を用いた検討-, 第45回大気環境学会年会, 秋田, 2004.10
- 平林幹啓, 小林伸治, 田邊 潔, 米田 穰, 柴田康行, 松尾基之: ¹⁴C測定に基づく沿道域大気粉じんの発生源解析と他の発生源解析法との比較, 日本分析化学会第54年会, 名古屋, 2005.9

Muramoto A., Yoshinaga J., Yamamoto N., Endo O., Hirabayashi M., Tanabe K., Yoneda M., Shibata Y.: Did Diesel Vehicle Regulation of Tokyo Affect $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ of Atmospheric Particles?, 17th Radiocarbon Conf., Oxford, 2006.4

Yoneda M., Uno H., Tanaka A., Uehiro T., Suzuki R., Kobayashi T., Kobayashi C., Uchida M., Shibata Y., Morita M.: Status and plans for AMS at NIES-TERRA, 10th Int. Conf. Accel. Mass Spectrom., Berkeley, 2005.9

Hirabayashi M., Shibata K., Muramoto A., Yoshinaga J., Kobayashi S., Yoneda M., Tanabe K., Shibata Y., Matsuo M.: Investigation of source apportionment for carbon component in airborne particulate based on ^{14}C measurements of organic and elemental carbons, 10th Int. Conf. Accel. Mass Spectrom., Berkeley, 2005.9

高橋克行, 平林幹啓, 米田 穰, 田辺 潔, 柴田康行, 西川雅高, 坂本和彦: 都市域大気エアロゾル中放射性炭素同位体比の季節変動, 1st East Asian Symp. Accel. Mass Spectrom. & 8th Japanese Symp. Accel. Mass Spectrom., つくば, 2006.1

Kumata H., Uchida M., Sakuma E., Uchida T., Fujiwara K., Tsuzuki M., Yoneda M., Shibata Y.: Application of microscale AMS ^{14}C analyses to micro organic pollutants in the atmosphere: Fossil vs. biomass carbon contributions to atmospheric PAHs associated with PM 10 and PM 1.1 aerosols from residential area of suburban Tokyo, 8th Japanese Symp. Accel. Mass Spectrom., Tsukuba, 2006.1

Uchida M., Kumata H., Sakuma E., Fujiwara K., Yoneda M., Shibata Y.: Compound Specific Radiocarbon Analysis (CSRA) Of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons(PAHs) In Fine Organic Aerosols From Residential Area Of Suburb Tokyo, 19th radiocarbon conf., Oxford Univ. United Kingdom, 2006.4

Uchida M., Kumata H., Fujiwara K., Sakuma E., Yoneda M., Shibata Y.: Compound Class Specific ^{14}C Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Associated with PM10 and PM1.1 Aerosols from Residential Areas of Suburban Tokyo, SETAC Asia Pacific, Beijing, 2006.9

3 受賞等

受賞者氏名：柴田康行

賞の名称：第15回環境化学功績賞（日本環境化学会）

受賞対象：「環境中の砒素の化学形態および放射性同位体元素の環境化学研究への応用」

受賞年月：2006年6月

受賞者氏名：吉兼光葉

賞の名称：Otto Hutzinger Student Prize (Dioxin 2006, Oslo)

受賞対象：“Concentration of perfluorochemicals in bivalves in Japan by strong alkaline digestion method”

受賞年月：Aug. 2006

REPORT OF SPECIAL RESEARCH FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

国立環境研究所特別研究報告
SR-67-2006

平成18年12月28日発行

編 集 国立環境研究所 編集委員会
発 行 独立行政法人 国立環境研究所

〒305-8506 茨城県つくば市小野川16番2
電話 029-850-2343 (ダイヤルイン)

印 刷 株式会社コムラ
〒501-2517 岐阜市三輪プリントピア3

Published by the National Institute for Environmental Studies
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506 Japan
December 2006

無断転載を禁じます

