

Fig.4 SIM chromatogram of human serum
 addition of standards 10ng/ml

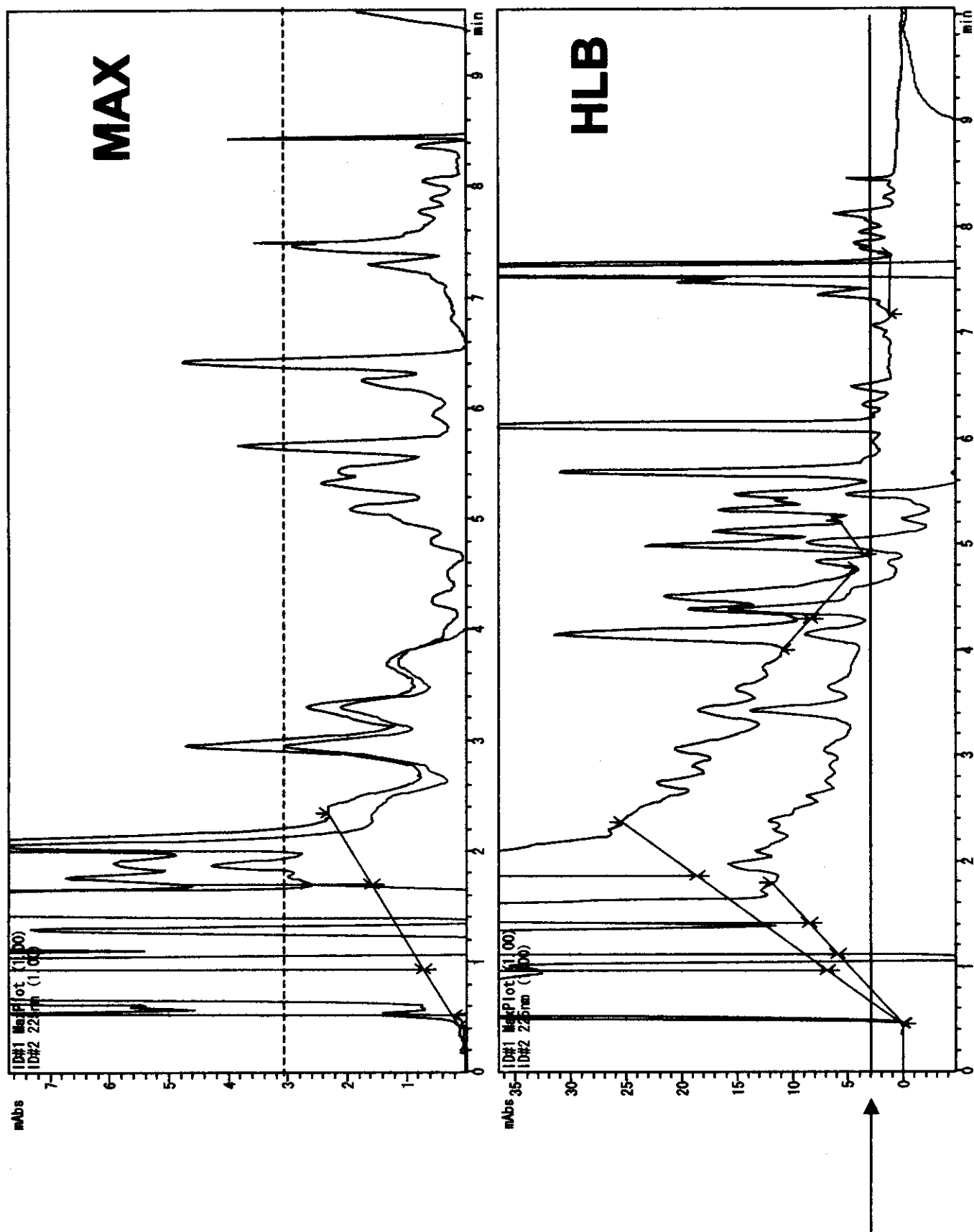


Fig.5 Comparison of HLB and MAX by PDA chromatograms

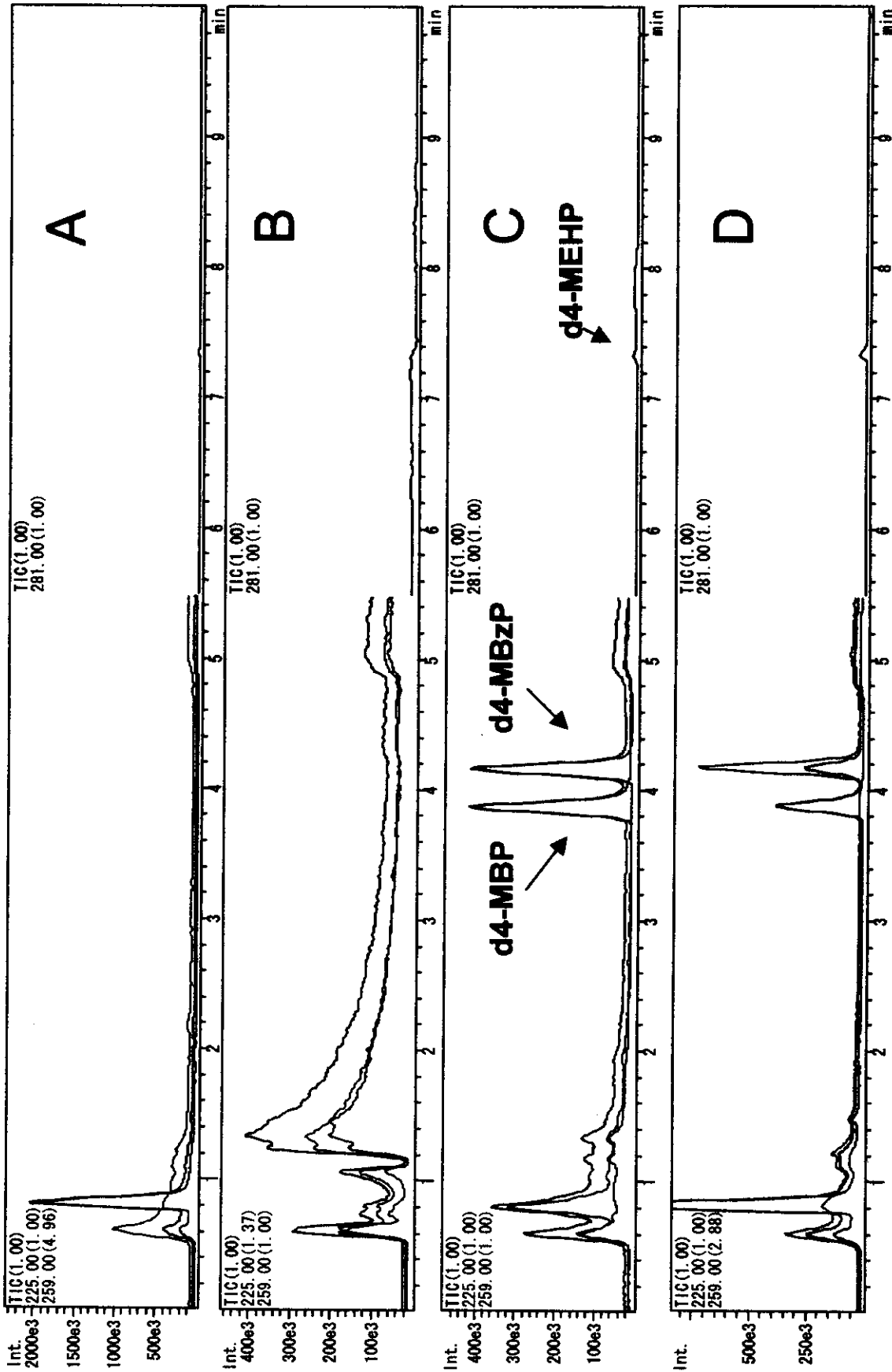
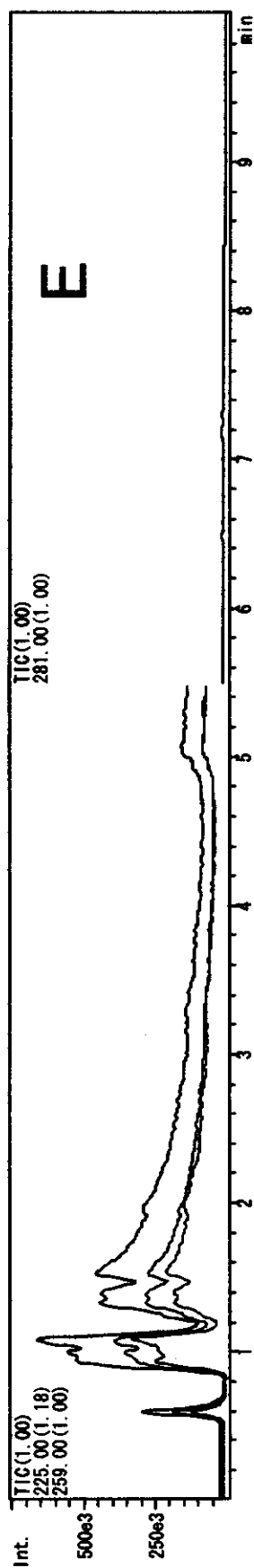


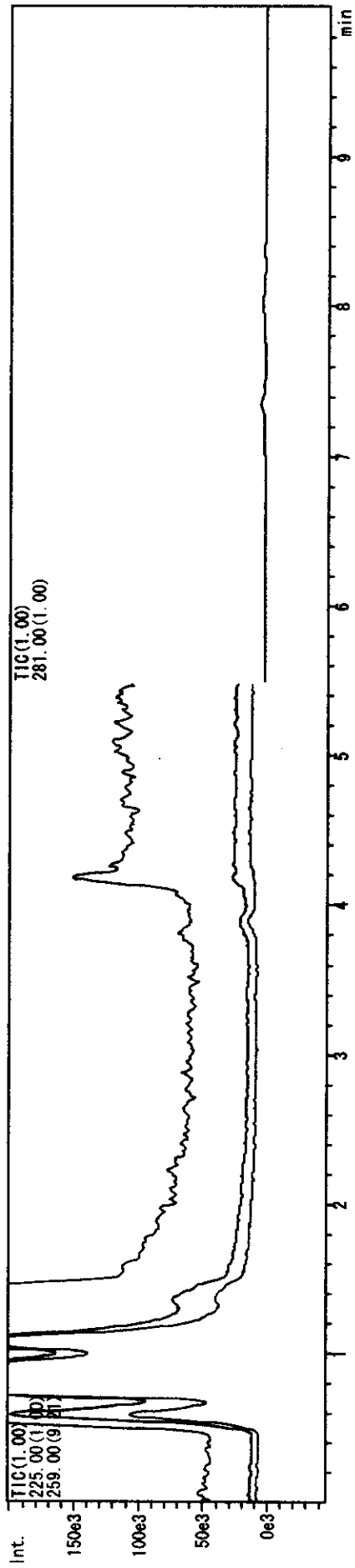
Fig.6-1 Effect of the enzyme in human serum

- A: serum, B: serum+1ppm d4-diester phthalate,
- C: serum+1ppm d4-diester phthalate (room temp., 1h),
- D: serum+1ppm d4-diester phthalate (37°C, 1h)



E: serum+ protein kinase K (80°C, 1h)
 +
 1ppm d4-diester phthalate (37°C, 1h)

Fig.6-2 Effect of the enzyme in human serum



**Table2 Determination of mono ester phthalates
in the serum and the ascites**

<u>ng/mL</u>	<u>MBP</u>	<u>MBzP</u>	<u>MEHP</u>
97 serum	N.D.	N.D.	trace
98 serum	N.D.	N.D.	2.6
98 ascites	N.D.	N.D.	3.3
99 serum	N.D.	N.D.	28.8
<u>99 ascites</u>	<u>N.D.</u>	<u>N.D.</u>	<u>18.8</u>

平成 12 年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

内分泌かく乱化学物質に関する生体試料（さい帯血等）分析法の開発と
その実試料分析結果に基づくヒト健康影響についての研究

ヒト尿・血液中のベンゾ[a]ピレン及びその代謝物の分析法開発

主任研究者	牧野恒久	東海大学
分担研究者	中澤裕之	星薬科大学
協力研究者	早川和一	金沢大学
	鳥羽陽	金沢大学

研究要旨

ベンゾ[a]ピレン (BaP) の代謝物として知られ、内分泌かく乱作用の疑われるモノヒドロキシベンゾ[a]ピレン (OH-BaP) の 12 異性体の分離・分析法を開発した。アルキルアミド型逆相カラム (Discovery RP-Amide-C16) により、不安定な 6-OH-BaP を除く 8 種類の OH-BaP を分離し、分離が不十分な 1-, 3-, 12-OH-BaP をカラムスイッチングにより β -シクロデキストリン固定化カラム (LiChroCart 250-4 Chiradex) に導入することで 11 種全てを分離し、蛍光検出できた。この分析システムを尿試料に適用するにあたって前処理法を検討し、その結果、銅-フタロシアニン誘導体を結合させた繊維 (ブルーレーヨン) を用いて濃縮することでほぼ 100% の被検体の回収率を達成した。健康人の尿中から代謝物として 3-OH-BaP を同定し、尿中に排泄される OH-BaP は主としてエストロゲンレセプターに対してビスフェノール A に匹敵する結合能を有する 3-OH-BaP であることが明らかとなった。

A. 研究目的

化石燃料などの有機物の不完全燃焼によって生成する多環芳香族炭化水素 (PAHs) は、癌や喘息などの原因となることが知られている。一方、著者らは、ベンゾ[a]ピレン (BaP) をはじめとする数種類の PAHs が抗エストロゲン、抗アンドロゲン作用を有することを明らかにした。またヒトエストロゲンレセプター (hER) に対する競合実

験及び酵母の hER に応答した β -ガラクトシダーゼの発現系を用いた実験では、BaP の代謝物として知られているモノヒドロキシベンゾ[a]ピレン (OH-BaP) の水酸基の位置の異なる異性体 12 種のうち、3-OH-BaP がビスフェノール A (BisA) に匹敵する強さの結合能を有することを見いだした。このことから、ヒトの BaP 暴露量を把握し、その内分泌かく乱作用の全容を明

らかにするためには、BaPのみならず、その代謝物も視野に入れた尿や血液中のモニタリングが不可欠であると考えられた。そこで、昨年度の厚生科学研究においては、カラムスイッチングHPLCによるOH-BaPの異性体の分離分析法を開発した。本年度は更に実用性を高めるためにこれを改良し、より簡便な分析システムを構築した。また、本分析システムをヒト尿試料に適用するにあたり、試料の前処理法として、グルクロン酸抱合体の加水分解、及び銅フタロシアニンレーヨンを用いた被検体の濃縮法について検討した。さらに健常人尿中OH-BaPの同定、及び定量を実施した。

B. 研究方法

B-1 試薬

12種のOH-BaPは、NCI Chemical Carcinogen Repositoriesから購入したものをを用いた。BaP、及びβ-グルクロニダーゼ(110350 U/mL) /アリルスルファターゼ(4194 U/mL), Type H-2, From *Helix pomatia*はSIGMA社製、UDP-グルクロン酸転移酵素ミクロソーム溶液は和光純薬製を用いた。また、ブルーレーヨンはフナコシ、固相抽出カートリッジ(Oasis HLB, 6 cc, 500mg)はWatersから購入した。その他の試薬は、HPLC用または特級を用いた。精製水は日本ミリポア社製Milli-Qで精製したものをを用いた。

B-2 装置

HPLCポンプは、LC-10AD(島津)2台、880U(日本分光)1台を用い、カ

ラムオープンはCTO-2A(島津)、スイッチングバルブユニットは892-01(日本分光)(V)、データ処理装置はC-R7A(島津)を用いた。カラムは分離用カラム2本、C1カラム; Discovery RP-Amide-C16(250×4.6 mm i. d., 5μm, SUPELCO)、C3カラム; LiChroCart 250-4 Chiradex(250×4.6 mm i. d., 5μm, Merk)を用い、濃縮カラムとしてC2カラム; BROWNLEE Spheri-5RP-18(30×4.6 mm i. d., 5μm, PERKIN ELMER)を用いた。またガードカラムとしてDiscovery RP-Amide-C16(20×4.6 mm i. d., 5μm, SUPELCO)を用いた。検出器は蛍光検出器RF-10AXL(島津)(D1, D2)を使用した。

B-3 HPLC 条件

移動相MP1:アセトニトリル/10 mMリン酸緩衝液(pH 7.0)(55/45, v/v)で試料を導入し、C1で12種のOH-BaPを分離した後、検出器D1で検出した(Position A)。このときC1で保持時間が近接し分離が不十分な成分(1-, 3-, 12-OH-BaP)をカラムスイッチングにより、C3に導入し分離した。C1カラムからの溶出時間に合わせてスイッチングバルブ(V)を切り換え(Position B)、C2の上端に被検体を濃縮させた。このときC1カラムからの溶出液に移動相MP2:水を加えアセトニトリル含量を低下させた。その後再びバルブを切り換え(Position A)、濃縮成分をC2カラムから移動相MP3:メタノール/水(57/43, v/v)によりバックフラッシュ法で溶出させ、C3に導入して分離後、検出器D2で検出した。検

出波長は3-OH-BaPの極大励起波長265nm、蛍光波長432nmとした。

B-4 1-OH-Pyr 及び 3-OH-BaP のグルクロン酸抱合体(-G)の合成

ガラス遠心管(50 mL)に、UDP-グルクロン酸三ナトリウム(1.5 mM)、塩化マグネシウム(5.0 mM)、及び1-ヒドロキシピレン(1-OH-Pyr) 又は 3-OH-BaP (5.0 μ M)の濃度となるように、それらの試薬を 50 mM トリス緩衝液(pH 7.5) 20 mL 中に溶解した。活性化済みUDP-グルクロン酸転移酵素(0.1 mg protein)を加え、37°C、2時間インキュベーションした。予めコンディショニングした固相抽出カートリッジ(OASIS, HLB 6cc 500 mg)に反応液を導入した。カートリッジを水10 mLで洗浄した後、それぞれのグルクロン酸抱合体をアセトニトリル/水=30/70 (v/v)溶液(40 mL)で溶出させた。溶出液を減圧乾固後、残渣をエタノール1 mLに溶解させた。各抱合体の同定は、LC-MS (ESI)で行った。1-OH-Pyr-G: m/z 393 [M-H]⁻, m/z 412 [M+NH₄]⁺; 3-OH-BaP-G: m/z 443 [M-H]⁻, m/z 462 [M+NH₄]⁺。また、調製した各抱合体溶液の濃度は、 β -グルクロニダーゼにより加水分解することで得られた脱抱合体の濃度から、6.3 μ M (1-OH-Pyr-G)、0.65 μ M (3-OH-BaP-G)と概算された。

B-5 ヒト尿試料の前処理

被験者尿 200 mL に 1 M 塩酸を加えて pH 5.0 とし、100 mM 酢酸緩衝液(pH 5.0) 400 mL で希釈した後、 β -グルクロニダーゼ(170 U/mL 尿)/アリルスル

ファターゼ(6 U/mL 尿)を添加し、37°C、8時間インキュベートした。その後、ブルーレーヨン 0.6 g を添加し 24 時間攪拌した。レーヨンを取り出し水で洗浄後、ペーパータオルで乾燥させた後、メタノール 100 mL に浸し 30 分間超音波抽出する。これを 2 回繰り返した後、抽出溶媒を減圧乾固し残渣をメタノール 200 μ L に再溶解させ、遠心後上澄みを試料とした。以上の操作について、酵素を添加せずに同様に行った場合をブランク試料とした。

B-6 抱合体の加水分解率の検討

水 100 mL に 1-OH-Pyr-G が 400 ng/L、3-OH-BaP-G が 20 ng/L の濃度となるように添加し、酢酸緩衝液(pH 5.0) 200 mL で希釈し、 β -グルクロニダーゼ/アリルスルファターゼを加え、37°C、0.5、1、8、16 時間インキュベートした。反応後、銅フタロシアニンレーヨン 0.30 g を添加し 24 時間攪拌した。以下、尿試料と同一操作を行い、残渣をエタノール 1 mL に溶解させ、HPLC に導入した。

B-7 ブルーレーヨンによる尿中 1-OH-Pyr 及び 3-OH-BaP の添加回収試験

1-OH-Pyr 1 μ g/L、及び 3-OH-BaP 15 ng/L の濃度となるように、ヒト尿試料 200 mL に添加し、ブルーレーヨンを用いて尿試料の前処理の項と同様の操作を行った後、抽出溶媒としてメタノール、メタノール/アンモニア水=50/1(v/v)、ジオキサンの3種を用いて抽出した。最終的に 1 mL とした

検液を HPLC に導入した。

C. 研究結果及び考察

C-1 OH-BaP 分析システムの改良

昨年 の 報 告 に お け る 1 2 種 の OH-BaP 分 析 HPLC シ ス テ ム は、 2 台 の ス イ ッ チ ン グ バ ル ブ、 4 本 の カ ラ ム、 及 び 3 台 の 検 出 器 か ら な る 複 雑 な シ ス テ ム で あ っ た。 今 回 こ れ に 改 良 を 加 え、 1 台 の ス イ ッ チ ン グ バ ル ブ、 3 本 の カ ラ ム、 及 び 2 台 の 検 出 器 か ら な る よ り 簡 便 な シ ス テ ム を 構 築 し た。 ま ず、 フ ェ ノ ー ル 性 水 酸 基 を 有 す る 化 合 物 を 強 く 保 持 す る ア ル キ ル ア ミ ド 型 逆 相 カ ラ ム (C1) を 用 い る こ と で、 通 常 の ODS カ ラ ム で は 達 成 で き な か っ た 1-, 3-, 12-OH-BaP を 除 く 8 種 の OH-BaP の 分 離 が 可 能 に な っ た。 残 る 分 離 が 不 十 分 な 1-, 3-, 12-OH-BaP 画 分 の み を カ ラ ム ス イ ッ チ ン グ に よ り ODS カ ラ ム (C2) に 濃 縮 後、 バ ッ ク フ ラ ッ シ ュ 溶 出 で β -シ ク ロ デ キ ス ト リ ン 固 定 化 カ ラ ム (C3) に 導 入 し 11 種 の OH-BaP 全 て の 分 離 が 可 能 と な っ た。 6-OH-BaP は 溶 液 中 で 極 め て 不 安 定 な た め 分 析 対 象 外 と し た。 検 出 限 界 は 1 ~ 30 f mol/injection (S/N=3) で あ っ た。 ま た 検 量 範 囲 は 3-OH-BaP で 12 f mol-0.6 p mol / injection で あ っ た。

C-2 抱合体の加水分解率の検討

β -グルクロニダーゼ/アシルスルファターゼを用いる 1-OH-Pyr-G、及び 3-OH-BaP-G の加水分解は、分解率の経時的变化を観察したところ、37°C、8 時間で完結した。この結果は他の研究グループが報告している時間とほぼ一致していた。このことから、尿試料

における分解時間は 37°C、8 時間とした。

C-3 ブルーレーヨンによる尿中 1-OH-Pyr 及び 3-OH-BaP の添加回収試験

ブルーレーヨンはレーヨン繊維に銅フタロシアニン三硫酸塩を共有結合させた青色綿状繊維であり、3 環以上の芳香環を持つ多環芳香族炭化水素類を選択的に吸着する性質を有する。本法の添加回収率は、抽出溶媒としてメタノールを用いたときに 3-OH-BaP、1-OH-Pyr 共にほぼ 100%を達成し、固相抽出法の回収率 (50%前後) と比較して高い回収率を示した。

C-4 ヒト尿試料への適用

健常人 (男、28 歳、非喫煙者) の尿試料 200 mL を酵素処理し、グルクロン酸または硫酸抱合体を加水分解した後、ブルーレーヨンによる濃縮操作を経て、この分析システムに適用した。定量値は尿中クレアチニン濃度で補正した。その結果、3-OH-BaP (0.27 ng/g creatinine) が検出された。しかしながら、カラムスイッチング後に検出すべき 1-OH-BaP 及び 12-OH-BaP に関しては、夾雑ピークと重なって同定をすることができなかった。また、1-OH-Pyr (600 ng/g creatinine) は、これまでの報告と同様の濃度であった。酵素処理をしない場合にはこれらのピークが検出されなかったことから、これらの代謝物は、尿中にグルクロン酸または硫酸抱合体として排泄されていると考えられた。

D. 結論

- ・ 昨年度までに開発した HPLC-カラムスイッチング法を用いる OH-BaP の分析法を改良し、より簡便な分析システムを構築した。
- ・ 3-OH-BaP 及び 1-OH-Pyr のグルクロン酸抱合体を合成し、抱合体の加水分解の経時変化を調べたところ、37°C、8 時間で完全に加水分解された。
- ・ 尿試料の前処理において、回収率の低い固相抽出の代わりに、多環芳香族炭化水素類を特異的に吸着する銅フタロシアニンレーヨンを利用することで OH-BaP を効率よく回収することができた。
- ・ 健常人（男、28 歳、非喫煙者）の尿中から 3-OH-BaP を同定・定量し、生体内でも BaP 水酸化体が代謝物として生成することを明らかにした。

今後、内標準の検討等を行って定量性を確立した後、生活習慣（特に喫煙）等の違い、すなわち BaP の暴露量の異なると考えられるヒト尿中の BaP 水酸化体を分析すると同時に、血液や母乳にこの分析法を適用するためにそれら試料の前処理法の検討を行っていく予定である。

E. 研究業績

学会発表

1. 野村麻貴、鳥羽陽、木津良一、久保田明子、輪島志帆子、正宗

行人、早川 和一：ディーゼル排気粉塵及び尿中のベンゾ[a]ピレンとピレンの水酸化体の検索；日本薬学会第 120 年会、30[PF]12-08, 2000, 岐阜。

2. 鳥羽陽、野村麻貴、木津良一、早川和一：カラムスイッチング HPLC を用いたヒト尿中モノヒドロキシベンゾ[a]ピレンの分析；第 7 回クロマトグラフィーシンポジウム、4, 2000, 徳島。
3. 中村浩彰、鳥羽陽、木津良一、早川和一、中澤裕之、牧野恒久：カラムスイッチング HPLC を用いたヒト尿中モノヒドロキシベンゾ[a]ピレンの分析；フォーラム 2000：衛生薬学・環境トキシコロジー、P-229, 2000, 東京。
4. 中村浩彰、蔵前弥生、鳥羽陽、木津良一、早川和一、中澤裕之、牧野恒久：カラムスイッチング HPLC を用いたヒト尿中モノヒドロキシベンゾ[a]ピレンの分析；日本薬学会第 121 年会、28[PF]III-054, 2001, 札幌

平成 12 年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

内分泌かく乱化学物質に関する生体試料（さい帯血等）分析法の開発と
その実試料分析結果に基づくヒト健康影響についての研究

生体試料（母乳、母体血、さい帯血等）中の有機塩素系化学物質の
分析法開発とその暴露評価

主任研究者	牧野恒久	東海大学
分担研究者	織田 肇	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	堀伸二郎	大阪府立公衆衛生研究所
	北川幹也	大阪府立公衆衛生研究所
	阿久津和彦	大阪府立公衆衛生研究所

研究要旨

母乳、母体血、さい帯血中の内分泌かく乱作用をもつ有機塩素系化学物質（PCB、農薬、ダイオキシン類）による胎児及び乳幼児暴露を評価することを目的とした迅速・精密分析法の開発を行った。また、本分析法を用いてこれら化学物質による母体および胎児、乳児暴露評価を行った。

今回開発した分析法により、さい帯血などの低脂肪組織における PCB、農薬の分析が可能となった。

PCB については、母乳、母体血、さい帯血から 35 種類の異性体が検出され、平均総 PCB 濃度（fat basis）は 95ng/g（母乳）、99ng/g（母体血）、61ng/g（臍帯血）であった。PCB 及び有機塩素系農薬の臍帯血中濃度は（Whole basis）母体血の約 1/4 であった。また、これら化合物の母体から胎児への暴露量は臍帯血流量が明らかになれば推定が可能になった。

母乳をかいした乳児暴露評価は、有機塩素系農薬はそれぞれの ADI の 33%～8% であった。一方、ダイオキシン類においては TDI を大幅に上回った。

A. 研究目的

PCB などの有機塩素系化学物質による内分泌かく乱作用とその健康への影響が問題となっている。これら化学物質は体内への蓄積性が高く、継続的な曝露の要因となっている。内分泌かく乱作用は胎児期から成長期における曝

露による影響が問題となっており、母体から血液あるいは母乳を通しての曝露状況を知ることが最も重要な課題である。そこで、胎児および出生後の汚染実態を明らかにすることを目的とした迅速・精密分析法の開発を行うと共に母体血・さい帯血・母乳のこれら化

学物質による汚染レベルについて詳細な検討を行った。

B. 研究方法

B・1 試薬・試料

試料：平成 11 年度に東海大学により採取された 10 人分の母体血、さい帯血、母乳、計 30 試料を用いた。なお、これら試料は被験者から了解を取った上で分析を行った。

試薬：溶媒類は PCB・残留農薬分析用、シクロヘキサンのみ HPLC 用、硫酸は超微量分析用（以上、和光純薬製）を用いた。分析に用いた水は脱イオン後、n-ヘキサンで洗浄したものをを用いた。

また、窒素気流下での溶媒除去には活性炭フィルターを通した高純度窒素ガスを用いた。

B・2 装置及び器具

GPC-GC/MS：前年度の同研究により開発した装置を用いた。

実験に用いたガラス器具はすべて、使用直前にアセトンおよびヘキサンで十分に洗浄し、乾燥させた物を用いた。

B・3 分析方法

B・3・1 脂肪抽出

各試料からの脂肪抽出は Paterson の方法に基づいて行った（図 1）。

なお、本法により抽出された平均脂肪量は、さい帯血 0.197%、母体血 0.895%、母乳 3.04%であった。

B・3・1 PCB、農薬の前処理

分析法を均一化するため、ほぼ同量の脂肪すなわち、さい帯血 (4ml) 由来：全量、母体血由来：約 20mg、母乳由来：約 40mg を精秤し用いた。

分析法は図 1 に示した。脂肪分解は、PCB と農薬の同時分析を目的とし硫酸分解による方法を選択した。また硫酸分解で残った極性成分の除去と脱水を目的とし、無水硫酸ナトリウムとフロリジルの積層カラムを、低分子の除去を目的として GPC を用いてクリーンアップを行った。

B・3・2 母乳中ダイオキシン類分析の分析

10 名分の母乳由来の脂肪を均等に混和し、2.0g を精秤したものについて、従来法に従いアルカリ分解、積層カラム、アルミナカラム等によるクリーンアップを行った。これを高分解能 GC-MS により分析を行った。

C. 研究結果

C・1・1 分析法の検討

硫酸処理により低塩素の PCB 類について回収率の低下が見られたため、2 塩化以下については検討対象外とした。

また、妨害による影響のため、リテンションタイムが HCB より遅いものを測定対象とした。GPC について、もっとも良好な回収が得られる条件として、注入後 3.2-5.2 分のフラクションを分取、測定することにした。さらに分析精度の向上とコンタミネーションの低減を目的としてオンライン GPC-GC/MS を用い、負化学イオン化法 (NCI) による分析を行った。

C・1・2 NCI 検量線の作成

NCI 法では EI 法と異なり、各アイソマー間のイオン化に差があることから、出来る限り定性できたアイソマー毎

の検量線を作成した。また、内部標準に 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl、3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl、3,3',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl、HCB、p,p'-DDE、の¹³C 同位体を用い、近似した内部標準との相対検量線により定量を行った。

また、検出限界は各アイソマーについて検液中濃度 0.2ppb とした。

PCB 濃度の算出：PCB の全異性体 209 種類をキャピラリーカラムで分離し、各異性体を定量し、各異性体濃度の総和を総 PCB 濃度とした。

C・2・1 分析結果

母乳、母体血、さい帯血中各化合物の平均脂肪中濃度を表 1 に示した。

PCB 濃度は母乳（平均値：95ng/g、最小値：42ng/g—最大値：192ng/g）、母体血（平均値：99ng/g、最小値：34ng/g—最大値：222ng/g）、臍帯血（平均値：61ng/g、最小値：15ng/g—最大値：126ng/g）であった。

有機塩素系農薬については DDE、β-HCH で高い濃度で検出された。

同一人の母乳、母体血、臍帯血中 PCB、有機塩素系農薬濃度を比較すると、脂肪中濃度では 3 試料間で同程度か、臍帯血で若干低い濃度が認められた。Whole basiss で母体血と臍帯血を比較すると臍帯血の脂肪含量は母体血の約 1/4 である。従って、臍帯血の PCB、有機塩素系農薬の濃度は母体血の 1/4 かそれ以下である。

総 PCB 中の各異性体（アイソマー）の組成比を表 2 に、また塩素数別の組成比を表 3 に示した。

各組織共に 6 及び 7 塩素 PCB が高濃度で蓄積されていた。各異性体組成においては母体血及び臍帯血の間で顕著な差は認められなかった。

母乳中のダイオキシン類の濃度は、PCDDs/PCDFs (166.7pg/g fat, 14.6pg TEQ/g fat)、Non-ortho PCB (76.1pg/g fat, 3.2pg TEQ/g fat)、Mono-ortho PCB(13215pg/g fat, 3.0pg TEQ/g fat)、総ダイオキシン類 (20.8pg TEQ/g fat) であった (表 3)。

PCB 及び有機塩素系農薬の母乳経路による乳児への暴露評価を表 4 に示した。表から明らかなように有機塩素系農薬は各化合物の ADI に対し 7.7%—33.7%で、問題はない。一方、ダイオキシン類に関しては PCDDs/PCDFs では TDI に対し 1643%、Co-PCB (Non/Mono-ortho) では 698%、総ダイオキシン類では 2340% であった。

D. 考察

今回新たに開発した分析法を用いて測定した結果 (表 1) と、アルカリ分解—高分解能 GC/MS を用いた従来法の分析結果 (表 3) とを比較したところ mono-ortho PCB についてよく一致した結果が得られたことから本法が従来法に対する簡便法として使用できると考えられる。

脂肪中濃度において、総 PCB、農薬類は母体血中と比較して、さい帯血中では同等か低くなる傾向が見られた (表 1、図 2)。PCB を塩素数別で比較したところ、7 塩化 PCB の低下が認められる (図 3)。この要因を明らかにするため、母

体血と母乳、さい帯血間の各塩素ごとに含まれる組成比について *t* 検定を行った (図 4)。この結果、母体血に比べ臍帯血中で 5 塩化では #118、6 塩化では #168 または #153、7 塩化では #170 が有意に低い (信頼係数 95%以上) ことが明らかになった。これは胎盤により移行が阻害されたためと考えられる。しかし、胎児の肝臓等の組織に蓄積された可能性も否定できないため、今後臍帯動脈・静脈、胎脂などの胎児由来の試料を分析することが必要と考えられる。一方、母乳では母体血にくらべて 7 塩化の #183 で低くなる傾向が見られたが、全体に大きな差は認められなかった。なお #99 はクロルデン類による妨害を受けた可能性があるため、今後さらに検討する必要がある。これら有意差の認められたものの構造式を図 5 に示した。分子構造との相関については、今後データを蓄積することにより明らかになると考えられる。

毒性の評価として、表 1 に TEQ を記した。#118 は TEF が設定されている mono-ortho PCB であり、このためさい帯血における Total TEQ は fat basis で母体血よりも低くなった (図 6)。Whole basis では 1/4 以下になると考えられ、胎児の組織に蓄積されていない限り、母体から胎児への曝露は低減されていると考えられる。

E. 結論

今回開発した分析法により、さい帯血などの低脂肪組織における PCB、農薬の分析が可能となった。

PCB 及び有機塩素系農薬の臍帯血中濃度は (Whole basis) 母体血の約 1/4 であった。

PCB 及び有機塩素系農薬の母体から胎児への曝露量は臍帯血流量が明らかになれば推定が可能になった。

母乳をかいした乳児曝露評価は、有機塩素系農薬はそれぞれの ADI の 33%~8% であった。一方、ダイオキシン類においては TDI を大幅に上回った。

F. 研究発表

論文

Akutsu, K., Obana, H., Okihashi, M., Kitagawa, M., Nakazawa, H., Matsuki, Y., Makino, T., Oda, H., Hori, S. : GC/MS analysis of polybrominated diphenyl ethers in fish collected from the Inland Sea of Seto, Japan : Chemosphere (in press)

国際学会

Shinjiro Hori, Kazuhiko Akutsu, Mikiya Kitagawa, Hajime Oda, Hiroyuki Nakazawa, Yasuhiko Matsuki, Tsunehisa Makino, Development of Analysis for Polybrominated Diphenyl Ether in Seafood and Actual Contamination of Seafood, 20th International Symposium on Chlorinated Dioxins and Related Compounds (DIOXIN 2000) 2000, 8, 13-17 (Monterey, CA, U. S. A.)

表3 生体試料中PCBs(塩素数別)組成比

		Cl 3	Cl 4	Cl 5	Cl 6	Cl 7	Cl 8	Cl 9	Cl 10
20milk		1.1	3.5	9.9	43.9	36.3	5.3	ND	ND
20blood		1.6	2.7	8.9	43.2	43.5	ND	ND	ND
20sai		2.1	2.0	6.7	49.8	39.3	ND	ND	ND
21milk		6.2	9.5	12.2	34.0	38.1	ND	ND	ND
21blood		ND	5.5	18.0	34.6	42.0	ND	ND	ND
21sai		6.8	12.4	21.2	55.5	4.1	ND	ND	ND
22milk		ND	0.8	5.4	25.7	60.9	7.2	ND	ND
22blood		ND	0.6	4.5	17.0	62.1	15.8	ND	ND
22sai		ND	0.2	6.4	21.9	55.6	15.9	ND	ND
25milk		0.8	5.5	12.9	37.1	36.4	7.3	ND	ND
25blood		ND	3.2	11.4	37.3	41.3	6.8	ND	ND
25sai		1.4	3.5	3.9	64.4	26.8	ND	ND	ND
27milk		0.2	0.8	5.9	33.1	53.6	6.4	ND	ND
27blood		ND	0.5	4.0	16.6	64.0	13.1	1.9	ND
27sai		ND	0.4	4.4	19.3	59.5	16.3	ND	ND
30milk		ND	0.5	9.8	29.1	53.2	7.3	ND	ND
30blood		2.0	2.0	20.2	34.6	36.2	5.0	ND	ND
30sai		ND	0.6	1.4	51.0	43.8	3.3	ND	ND
38milk		ND	2.0	10.0	41.8	39.0	7.2	ND	ND
38blood		1.7	3.3	9.4	42.0	43.6	ND	ND	ND
38sai		7.3	1.4	tr	60.7	27.1	ND	ND	ND
39milk		7.0	17.4	16.9	41.6	17.1	ND	ND	ND
39blood		6.7	9.3	17.8	39.5	26.7	ND	ND	ND
39sai		ND	5.0	17.4	46.1	31.5	ND	ND	ND
43milk		0.9	0.7	11.4	18.0	52.5	15.4	1.2	ND
43blood		ND	8.4	10.3	26.9	41.7	12.7	ND	ND
43sai		ND	12.9	3.8	45.4	37.9	ND	ND	ND
45milk		ND	ND	10.0	36.4	43.7	9.9	ND	ND
45blood		0.5	0.4	9.3	22.2	46.9	20.8	ND	ND
45sai		0.5	1.2	4.5	16.1	50.4	27.3	ND	ND
母乳	Ave	2.7	4.5	10.5	34.0	43.1	8.3	1.2	ND
	SD	3.1	5.7	3.3	8.0	12.6	3.1		
血液	Ave	2.5	3.6	11.4	31.4	44.8	12.4	1.9	ND
	SD	2.4	3.2	5.6	10.0	11.1	5.8		
さい帯血	Ave	3.6	4.0	7.7	43.0	37.6	15.7	ND	ND
	SD	3.2	4.8	6.8	17.6	16.3	9.8		

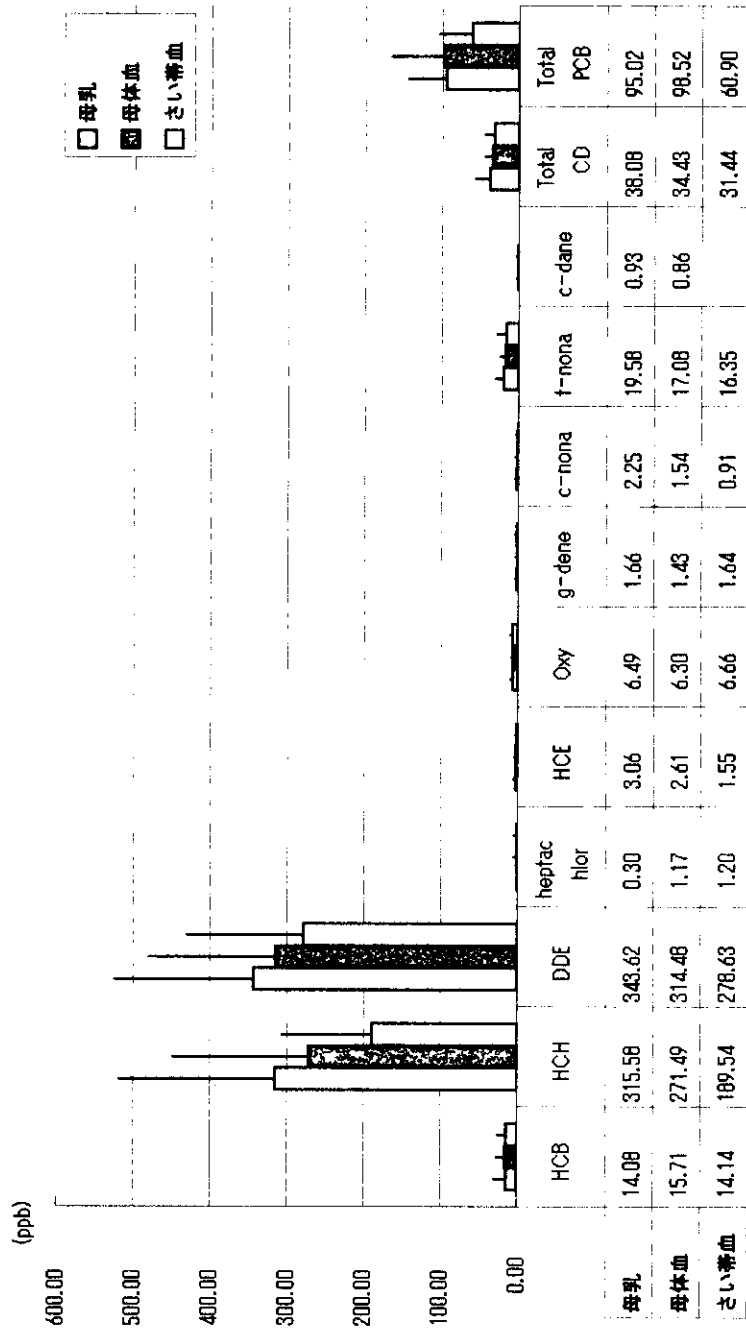


図2 農薬類、総PCB濃度 (Fat Basis)

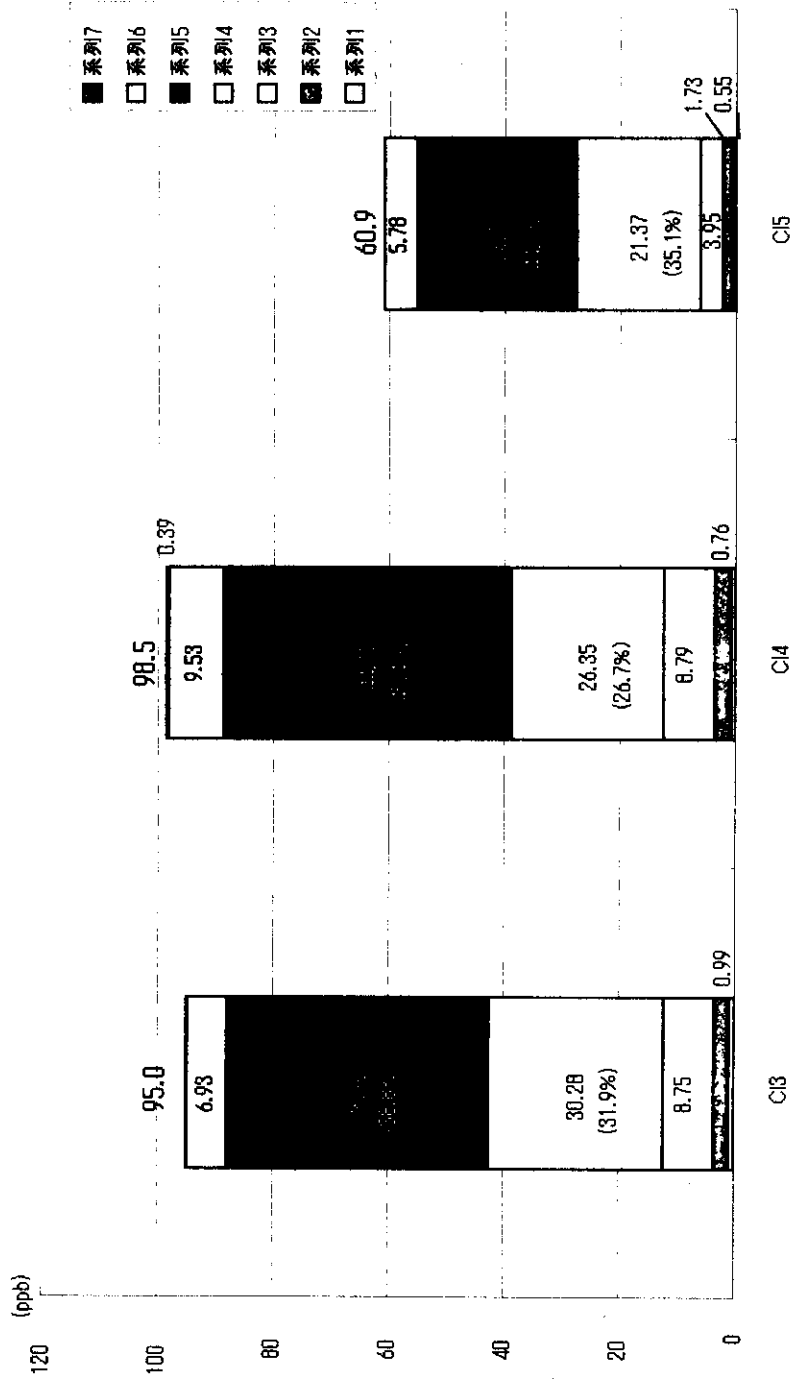


图3 塩素数別濃度 (Fat basis)

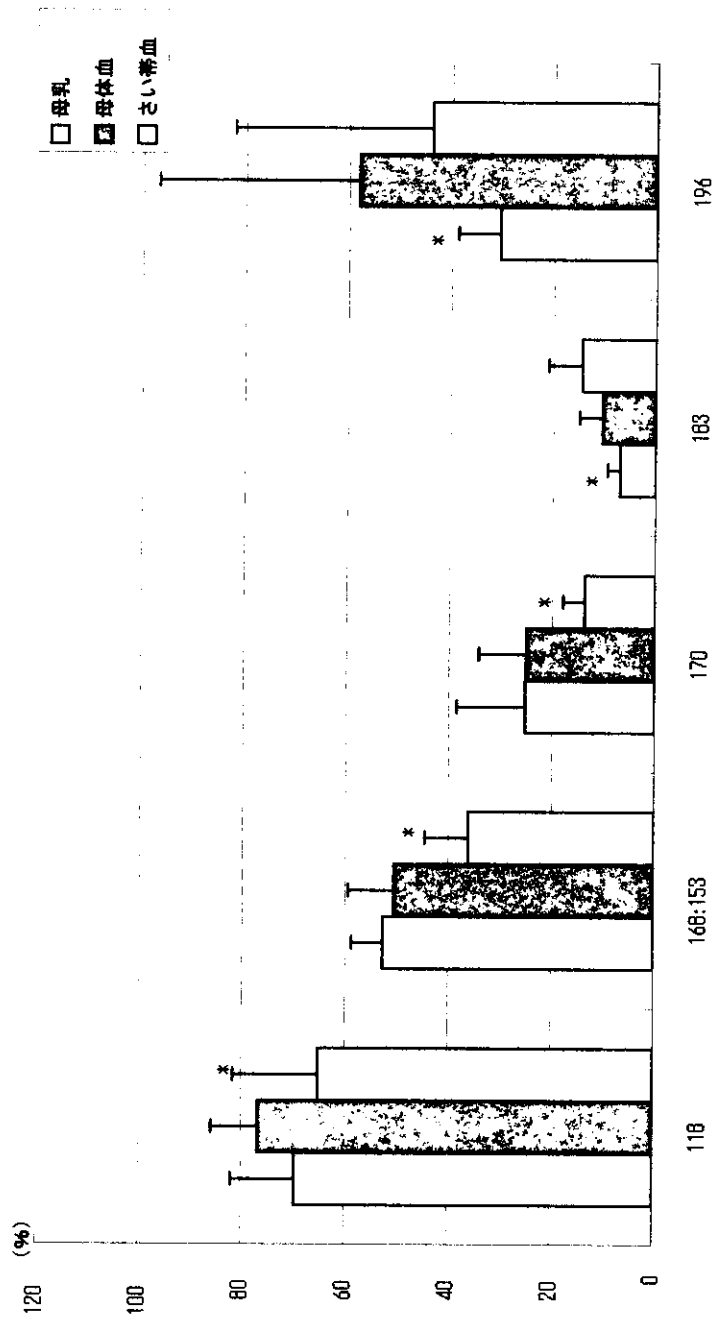


図4 各塩素数中の組成比で有意差が認められたアイソマー

塩素数ごとに100%としたときの各アイソマーが占める割合

有意差は信頼係数95%以上のもの

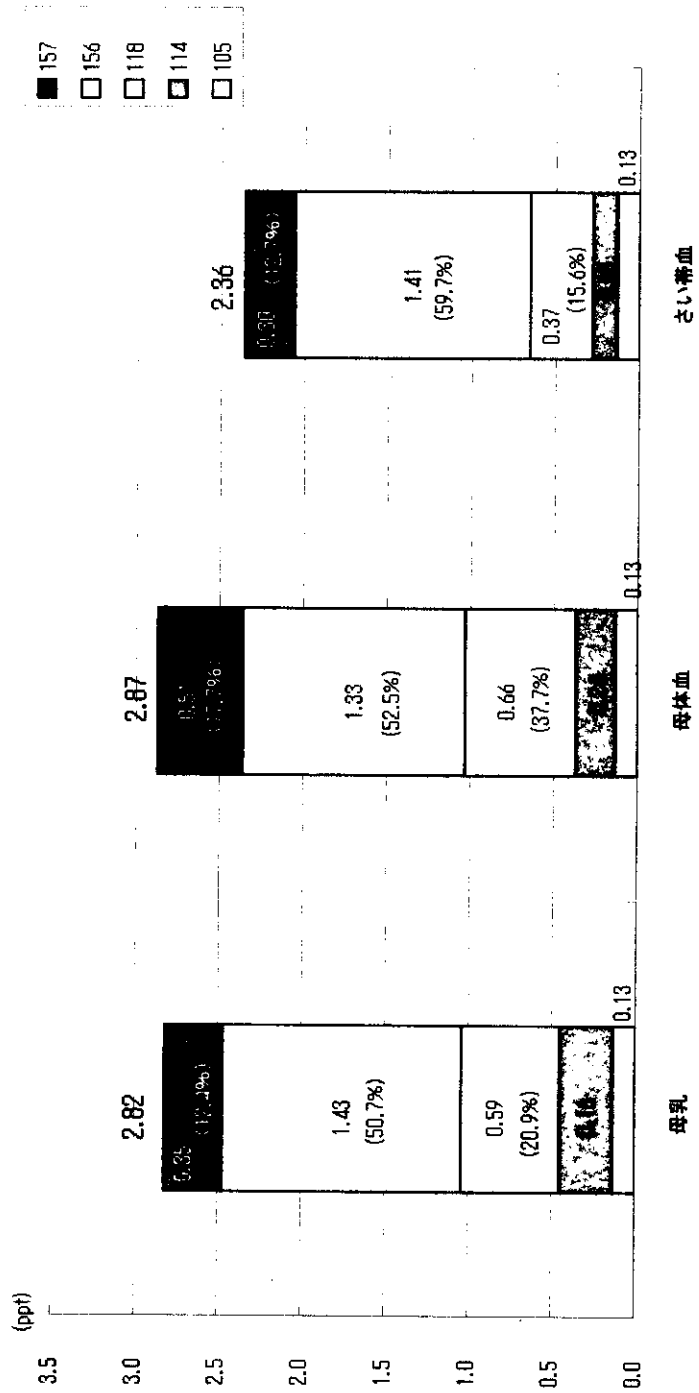


図6 mono-orthoPCBによる毒性(TEQ)の比較