

おける検出下限値とした。得られた PCBs の装置の検出下限値・試料における検出下限値を表 1 に示す。これらの検出下限値は各試料において十分な感度を有していることが確認できる。よって、本方法が、バンクされ、僅かな試料量しかない生体および食事試料に関して、対象とする化学物質を正確に測定し定量することが可能であることを確認した。

C-2. 測定結果

実検体における PBDEs の測定結果および全操作ブランクの結果を表 2 に示す。同様にして PCBs の結果を表 3 に示す。なお、用いた測定方法は同位体希釈法のため、定量を対象とする物質およびその異性体の ^{13}C -安定同位体を内部標準物質として分析試料に添加し、この添加した安定同位体が定量を対象とする物質に対して物理的かつ化学的にほぼ同様の挙動を示すことから、添加した ^{13}C -安定同位体濃度を基準（内部標準）として定量を対象とする物質の濃度を定量する。さらに、本方法では添加した ^{13}C -安定同位体の内部標準に対して、それらとは異なる ^{13}C -安定同位体をシリンジスパイクとして、測定直前の最終濃縮段階にて添加し、このシリンジスパイク濃度を基準として内部標準濃度を比較して、作業工程において精度劣化等の有無を回収率として確認している。この回収率において一部の検体を除いては概ね 50% から 120% の結果が得られている。一般的に微量の試料を用いて、かつ、多段階過程を経て分析を行う場合では作業上の精度的な劣化に起因した回収率の低下が想定できる。今回の回収率の結果は上記理由を考慮しても良好な結果であると判断でき、サンプル処理過程を含めた総ての作業に

おいて本分析法の精度の高さ、ならびに定量値の信頼性の高さが示唆される。さらに、ブランク値における全操作ブランクと容器ブランクの評価では、これらの値がほぼ同等とみなされ、さらに、分析対象物質の定量値より明らかに低いことから、試料における定量値から全操作ブランク値を減算して、実際の定量結果とした。すなわち、実試料濃度は全操作ブランク値を減じて算出した濃度である。

D. 考察

試料バンクへの貢献として、分析過程に要求される条件は少量サンプルにおいて正確に測定を行うことであり、我々はこの目的達成のため、少量の血液および食事試料において PCBs の特徴的な異性体濃度を迅速高感度に測定する方法を開発した。

E. 結論

本方法は既に我々が開発した 30 mL 程度の試料量を用いた分析法を基にして、そこからの技術移管により開発を行っているため、感度および精度面においても少量サンプルの評価において十分な能力を有していることを確認した。

文献

1. H. Hirai, Y. Fujimine:
Organohalogen Compounds 2003,
61, 151-154.
2. H. Hirai, Y. Fujimine:
Organohalogen Compounds 2003,
63, 417-420.
3. T. Hori, Y. Ashizuka, K. Tobiishi,
R. Nakagawa, T. IIDA : Fukuoka
Institute
of health and environmental
sciences 2002,

29, 91-96

F. 健康危機情報
なし

G. 研究発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（総合）研究報告書

微量な母乳試料に対するポリ集素化ジフェニルエーテル(PBDEs)の
分析法に関する研究（平成16年度）

分担研究者 太田壮一 摂南大学助教授

研究要旨

本研究では、微量な母乳試料中のPBDEs異性体を、迅速かつ高精度に分析する方法を確立することに焦点を絞って検討を進めた。まず、現行法の抽出、精製及び定量法に対して種々の再検討を行った結果、精製法ではスモールスケール型の硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフ法を、また定量法では高分解能GC/MSによるタイムグループピング法を採用することにより、僅か母乳3mL中のPBDEsの分析が可能となった。次に、母乳試料105検体中に含まれるTriBDE #28、TeBDEs#47、PeBDE#99、#100及びHxBDE#153、#154の計6種の異性体について分析したところ、PBDEs総濃度の範囲は、0.1~23 ng/g lipidであることが観察された。さらに、総濃度に対する寄与率の最も高い異性体としては、TeBDE#47であり、次に、PeBDE#99、PeBDE#100の順であることが判明した。

A. 研究目的

微量な母乳試料中のPBDEsの新規高精度迅速型分析法の確立を基礎として、京都大学医学部、小泉昭夫教授より提供して頂いた、全国各地13箇所から採取された105検体の母乳試料中に含まれるPBDEsの汚染データを提供することを目的とした。

B. 研究方法

(1) 分析試料

初産婦や経産婦別及び採取地域等が判明している母乳試料3mlを用いて分析に供した。

(2) 分析試薬

- ①10 臭素化ジフェニルエーテル：東京化成工業社製
- ②ヘキサブロモベンゼン：和光純薬工業社製
- ③ジクロロメタン、メタノール、エタ

ノール、ジエチルエーテル、アセトン：和光純薬工業社製の残留農薬・PCB分析用（それぞれ5000、5000、5000、3000、2000倍濃縮検定品）

- ④無水硫酸ナトリウム：和光純薬工業社製の残留農薬分析用
- ⑤トルエン及びn-ヘキサン：それぞれ、和光純薬工業社製、シグマアルドリッチジャパン社製1級を蒸留により精製したもの
- ⑥硫酸：和光純薬工業社製の精密分析用
- ⑦硝酸銀：関東化学社製の特級
- ⑧水酸化カリウム：和光純薬工業社製の特級
- ⑨n-ノナン：和光純薬工業社製のダイオキシン分析用
- ⑩シリカゲル：MERCK社製 silica gel 60 (70~230 mesh, ASTM)

⑩10%硝酸銀シリカゲル：シリカゲルに対し、硝酸銀が10 (w/w) %の割合になるようにシリカゲルに40 (w/w) %硝酸銀水溶液を加え、よく攪拌し減圧下乾燥したもの

⑫PBDEs 標準物質

TriBDE; 2, 4, 4' - (#28)、
TeBDE; 2, 2', 4, 4' - (#47)
PeBDE; 2, 2', 4, 4', 5- (#99)
 2, 2', 4, 4', 6- (#100)
HxBDE; 2, 2', 4, 4', 5, 5' -
 (#153)

2, 2', 4, 4', 5, 6' - (#154)

以上、Cambridge Isotope Laboratories 製

¹³C₁₂-TriBDE; 2, 4, 4' - (#28)
¹³C₁₂-TeBDE; 2, 2', 4, 4' - (#47)
¹³C₁₂-PeBDE; 2, 2', 4, 4', 5- (#99)
¹³C₁₂-HxBDE; 2, 2', 4, 4', 5, 5' -
 (#153)
¹³C₁₂-HxBDE; 2, 2', 4, 4', 5, 6' -
 (#153)

以上、Wellington Laboratories 製

(3) 母乳試料中のPBDEsの前処理法

母乳試料の分析法としては、まず、図1に示す方法にて、脂肪を抽出後、その重量を測定した。次に、図2に示した手順に従って前処理を行い、PBDEsの精製を行った。すなわち、母乳試料3-4 mLを25 mLの共栓付試験管に取り、これに内標準物質として¹³C₁₂-TriBDE 1種、¹³C₁₂-TeBDE 1種、¹³C₁₂-PeBDE 1種、¹³C₁₂-HxBDE 2種の計5種を各2 ng および1 mol/L KOH/EtOH (10 %H₂O) 溶液3 mLを加えた後、30分間振とうした。このアルカリ分解液に、n-ヘキサン3 mL及びヘキサン交換水6 mLを加え、30分振とうした。静置後ヘキサン層を分取して、水層に同僚のn-ヘキサンを加え同様の操作を3回行った。そして、このヘキサン

抽出液を合わせ、5%塩化ナトリウム水溶液2 mLを加えて回転するように穏やかに振り動かし、静置後水層を取り除いた。そして、同様の操作を2回繰り返した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、濃縮を行った後、ヘキサンに置換し抽出液とした。さらに、この抽出液試料は、予め調製しておいた硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、以下に示す溶出液にて、第1、第2画分に分画精製を行った。第1画分として、n-ヘキサン75 mLにより夾雑物質を除去し、また、第2画分として10%ジクロロメタン/n-ヘキサン150 mLによりPBDEsを溶出させた。そして、この第2画分の溶出液をK.D.濃縮器により約1 mLにまで濃縮した。最後に、この試料を、減圧濃縮により濃縮してヘキサンに置換後、n-ノナン溶液を20・L添加して、窒素を吹きつけながら濃縮し分析用試料(20・L)とした。この分析用試料液はキャピラリーカラムを装着したHRGC-HRMSを用いて、EI-SIM法 (Electron Impact-Selected Ion Monitoring) によって定量を行った。

(4) PBDEsの定量方法

PBDEs等については、アイソトープ内標準法を基礎とした、GC/MSによる高精度な微量分析法の確立を試みた。具体的には、(2)の分析試薬に記載した標準品を用いて、キャピラリーカラムの種類、昇温条件、イオン過電圧及びモニタリングイオン、データ処理条件等を中心にPBDEsの最適定量条件の検討を行った。

①分析機器および分析条件

a)分析機器:Hewlett・Packard 6890 ガスクロマトグラフ (GC) - JEOL JMS-700M 質量分析計 (MS)
b)カラムおよびカラム温度:

3~6 臭化 PBDEs 分析

カラム：J&W 社製 DB-17HT キャピラリー
カラム

(30 m x 0.25 mm, 0.25 μ m)

カラム温度：180°C (2 min) - 240°C
(3°C/min)

- 340°C (20°C/min, 10
min)

タイムグループ：3, 4 臭素化体 (0
~24.5 min), 5, 6 臭素
化体 (24.5~37 min)

高分解能 GC/MS

キャリアーガス：He

イオン化法：電子衝撃型 (EI)

注入口、インターフェース及びチャン
バー温度：260、260 及び 260°C

イオン化電圧：42 eV

イオン化電流：600 μ A

イオン加速電圧：10 kV

分解能：10000

C. 研究結果

(1) 10%硝酸銀シリカゲルを充填した
スモールスケールカラムによる PBDEs
の精製法の検討

今回の検体量が著しく少ない (母乳
3 mL) ことより、より高精度な分析を
目的として、従来型のカラムに対して、
パスツールピペットを用いて改良した
スモールスケール型のカラムを用いて
検討を行った。すなわち、精製効果
の高い微量検体用の PBDEs の分析法
を開発するために、まず、充填剤の選
択に関する検討を行った。従来から
PBDEs の精製時に繁用されている多層
シリカゲルカラムクロマトに用いら
れている、硫酸シリカゲル、水酸化カ
リウムシリカゲル及び硝酸銀シリカ
ゲルをそれぞれ単独あるいは組合わ
た場合における、母乳試料中の PBDEs
の精製度を、高分解能 GC/MS のクロ
マト上で検討した。その結果、硝酸銀シ

リカゲル単独で使用した場合でも、極
めて良好な分析データが得られるこ
とが観察された。次に、母乳試料 3 mL
を精製するために、最適な充填剤量の
検討を試みたところ、2.0g の充填量で
十分な精製効果が認められたことよ
り、本研究では、10% 硝酸銀シリカゲ
ル 2.0g の上下にシリカゲル 0.5g をサ
ンドイッチ型に充填したスモールス
ケールカラムを駆使することによっ
て、精製操作を進めることにした (図
2)。

(2) 高分解能 GC/MS における PBDEs
の最適なモニタリングイオンと検
出・定量下限値の検討

ハロゲン化合物の特性として、イオ
ン化される際に親イオン以外にも、
種々の娘イオンピークが検出される。
一般的には親イオンを検出してモニ
ターしながら定量するケースが多いが、
今回測定対象となるような臭素系化
合物においては、しばしば臭素が脱離
した娘イオンピークの強度の方が高
く、その分子イオンピークを検出する
場合の方が、高感度に測定できる場
合が多いことがある。そこで、本検討
では、TriBDE~HxBDE の標準品を用
いて、最適なモニタリングイオンの選
定を試みた。図 3 は、その時の TriBDE#28
と TeBDE#47 のマススペクトルの一
例を示したものである。3 及び 4 臭
化ジフェニルエーテルについては、
図 3 に示す様に、親イオンである
 $[M+2]^+$ 及び $[M+4]^+$ の強度が最も
高いことが観察された。一方、5 及
び 6 臭化ジフェニルエーテルのそ
れは親イオンから臭素原子が 2 個
脱離したフラグメントイオン
 $[M+4-2Br]^+$ 、 $[M+6-2Br]^+$ 及び
 $[M+8-2Br]^+$ の強度が最も高い結
果となった。しかし、5 及び 6 臭
素化体においても、親イオンと娘イ
オンの強度比

は比較的差が小さく、親イオンピークの測定でも、十分な高感度測定が可能であることが認められた。

従って、今回検討対象とした3～6臭素化体に関しては、全て親イオンピークを選択して定量することとした(表1)。

そして、このモニタリングイオンを選択して、HRGC/HRMSを用いて測定した場合における母乳試料中のPBDEsの検出下限値と定量下限値の比較を行った(表2)。その結果、検出下限値において、Tri/TetraBDE 2, PentaBDE 5, HexaBDE 10 pg/g lipid のレベルで観察された。

D. 考察

本研究の遂行には、微量の母乳試料に対するPBDEsの高精度分析法を確立する必要があった。すなわち、大量かつ種々の充填剤を用いて精製する場合、その精製効果は上がるものの、充填剤そのものに対して、測定対象化合物が非特異的な吸着現象を起こすことにより、回収率が著しく悪くなる恐れがある。また、繁用されている多層シリカゲルカラムクロマト法は、本研究室で考案したものであるが、このカラムの長所は、環境及び生体試料に対して、ほぼオールマイティーに対応できるものの、熟練した者による種々の充填剤を積層して調製するという煩雑な操作があるという短所も内包している。それ故に、今回、母乳を対象試料とした場合においては、必ずしも全ての充填剤を用いる必要がないことが推定されたことから、PBDEs精製のための種々の充填剤や量に関する検討を行ったところ、10%硝酸銀シリカゲルを単独で用いた場合でも、十分な精製効果が得られることが判明した。

次に、測定時において問題となる、最

適な測定用のモニタリングイオンに関する検討を行ったところ、今回、測定対象とした3～6臭素化体では、親イオンピークを中心に測定すれば、微量な母乳試料でも、PBDEsを高感度に測定することが可能であることが認められた。ただし、予試験的に行った、7臭素化体以上のPBDEs標準品の検討結果においては、娘イオンピークの方が、高臭素化体になればなるほど、その強度は高いことが観察された。また、検出及び定量下限値の検討結果より、今回確立した分析法は微量な母乳試料中のPBDEsの定量に対しても、十分に適応可能であることが判明した。

E. 結論

以上の検討結果より、微量な母乳試料に対する、10%硝酸銀シリカゲルを用いたスモールスケールカラムによる前処理法を基礎とした高分解能GC/MSによる高精度迅速分析法を確立することが可能となった。

F. 健康危険情報

そちらでお願いします

G. 研究発表

1. 論文発表

現在作成中で、臭素ハロゲン化合物に関連する論文はありません。

2. 学会発表・その他

1) 太田壮一、奥村尚志、中尾晃幸、青笹治、宮田秀明：母乳、粉乳(人工乳)及び牛乳中に観察された臭素系難燃剤及び臭素系ダイオキシンによる汚染レベル、第14回環境化学討論会講演要旨集(大阪) pp48-49, 2005

2) 宮田秀明、遠藤新也、中尾晃幸、青笹治、太田壮一、藤峰慶徳、福井早智子：母乳、粉乳(人工乳)及び牛乳中に観察された臭素系難燃剤及び臭素系ダイオキシンによる汚染レベル、

第14回環境化学討論会講演要旨集
(大阪) pp48-49, 2005

3) 渡辺功、熊谷信二、田中之雄、足塚由紀、中川礼子、太田壮一、高菅卓三、野村孝一、藤峰慶徳、宮崎徹、橋本俊次、森田昌敏、織田肇：母乳中臭素化ダイオキシン類分析法マニュアルの検討-脂肪試料クロスチェック結果、第14回環境化学討論会講演要旨集(大阪) pp304-305, 2005

4) 太田壮一、奥村尚志、中尾晃幸、青笹治、宮田秀明：母乳及び乳製品中の有機臭素系化合物による汚染実態、第14回環境化学討論会講演要旨集(大阪) pp562-563, 2005

5) H. Miyata, S. Endo, T. Nakao, O. Aozasa, S. Ohta, Y. Fujimina, S. Fukui, Investigation of main source of PBDEs in human breast milk: Proceeding of 25th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (Berlin), Organohalogen Compounds, Vol. 67, pp1797-1800, 2005.

6) 太田壮一、奥村尚志、西村肇、中尾晃幸、青笹治、清水嘉子、落合富美江、宮田秀明：母乳及び乳製品中の臭素系難燃剤及び臭素系と臭素化ダイ

オキシンによる汚染実態、第13回環境化学討論会講演要旨集(静岡) pp552-553, 2004

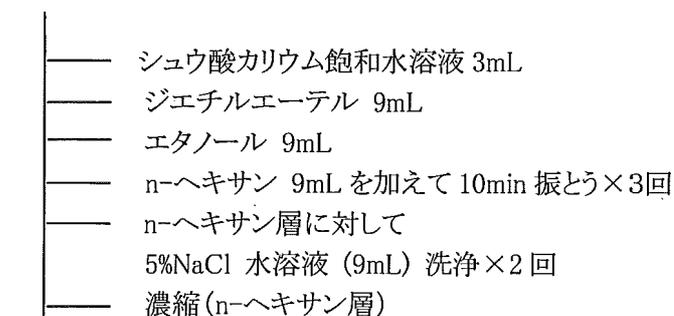
7) S. Ohta, T. Okumura, H. Nishimura, T. Nakao, O. Aozasa, H. Miyata, Characterization of Japanese pollution by PBDEs, TBBPA, PCDDs/DFs, PBDDs/DFs AND PXDD/DFs observed in the long-term stock-fishes and sediments: The Third International Workshop on Brominated Flame Retardants (BFR 2004, Toronto), pp66-69, 2004.

8) S. Ohta, T. Okumura, H. Nishimura, T. Nakao, Y. Shimizu, F. Ochiai, O. Aozasa, H. Miyata, Levels of PBDEs, TBBPA, TBPs, PCDDs/DFs, PXDDs/DFs AND PBDDs/DFs in human milk of nursing women and daily milk products: Proceeding of 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (Berlin), Organohalogen Compounds, Vol. 66, pp2857-2862, 2004.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特許等の予定はない

【実験フローシート; 図1, 2】

母乳試料 3~4 mL



濃縮液 (脂肪量秤量)

図1 母乳試料中の脂肪抽出法

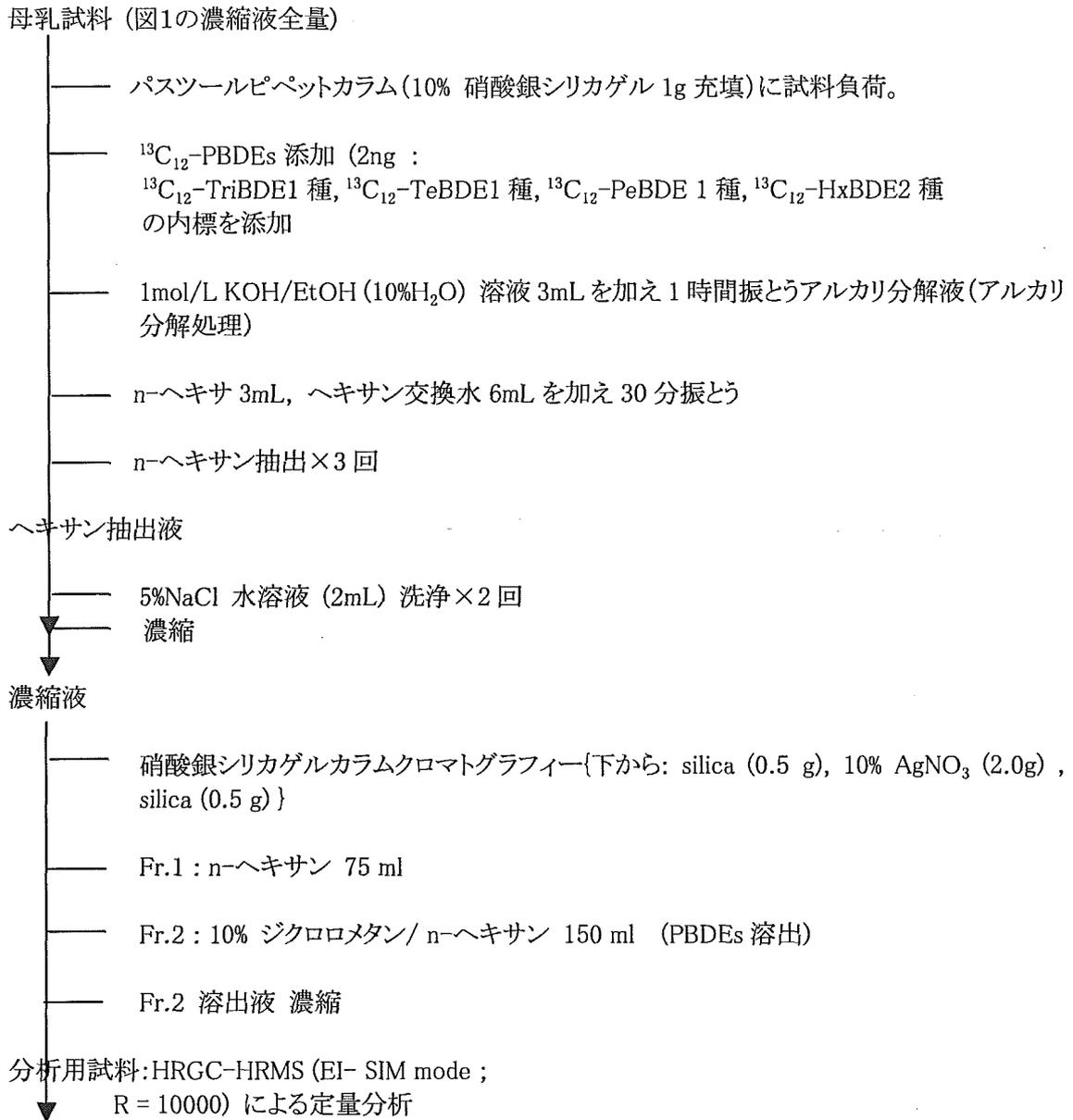


図2 母乳試料中のPBDEsの前処理(抽出・精製)法

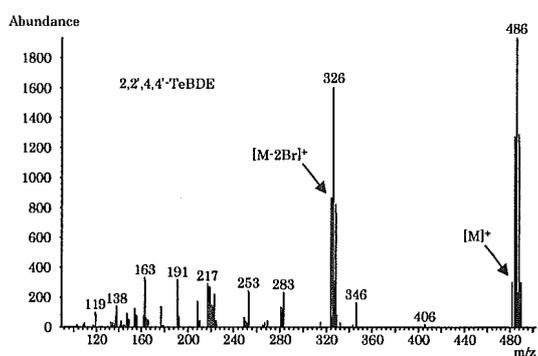
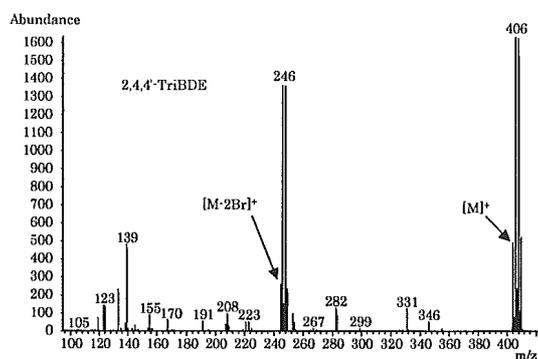


図3 TriBDE#28とTeBDE#47のマススペクトルにおけるモニタリングイオンの比較

表 1 PBDEsにおけるSIM測定法の設定精密質量数と相対強度比

PBDEs	精密質量数			相対強度比		
	[M+2] ⁺	[M+4] ⁺	[M+6] ⁺	[M+2] ⁺	[M+4] ⁺	[M+6] ⁺
TriBDE	405.8027	407.8007		1.0	0.98	
TeBDE	483.7132	485.7112		0.68	1.0	
PeBDE		563.6217	565.6197		1.0	0.98
HxBDE		641.5322	643.5302		0.77	1.0

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（総合）研究報告書

新たな難分解性化学物質—Perfluorooctane sulfonate および
Perfluorooctanoic acid 汚染に関する研究（平成 15-16 年度）

主任研究者 小泉昭夫 京都大学大学院 教授
研究協力者 原田浩二 京都大学大学院博士課程

日本におけるペルフルオロアルキル化合物による環境汚染とヒト曝露の長期傾向の調査-本研究では環境水、血清試料中の PFOS 類の測定法を開発し、またそれぞれの汚染の様態とそれらの関連を明らかにすることを目的とし、さらに過去のヒト血清試料を用いヒト曝露の経年変化を明らかにした。近畿地方の河川表層水中 PFOA 濃度は他の地域より有意に高かった。PFOS 類は主に下水処理場から排出され、特に安威川に PFOA 高汚染源を見いだした。また、飲料水についても、近畿地方では他の地域より PFOA、PFOS 濃度は高く、10ng/day 以上の摂取が推定された。過去の血清試料により、PFOS・PFOA 濃度がこれまでの 25 年にわたって、それぞれ、3 倍、14 倍に増加したことが明らかになった。また、すべての地域内で血清中 PFOS・PFOA 濃度は男性で有意に高かった。さらに、PFOS・PFOA 濃度両方について近畿地方では東北地方より有意に高かった。国内における PFOS 類の環境汚染は、米国での報告に比べれば低いことが分かったが、近畿、関東地方ではそれと同等であることから今後汚染が広がっていく可能性が示唆された。ヒト曝露においても、米国住民の血中全有機フッ素化合物濃度がこれまで 30 年間で変化がなかったと考えられていたが、東北地方においては 25 年間で大きく増加していることが明らかにされた。

A. 研究目的

最近、懸念が表明される化学物質として、ペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）に代表される有機フッ素化合物があげられている。PFOS の主要な生産者であった 3M 社は 2000 年に、環境中、野生生物への蓄積を理由に、2002 年の終わりまでに PFOS などの生産を停止することを発表した。1950 年代からそれまで膨大な利益を上げていた製品を撤収させるほどの事態であった[1]。

この有機フッ素化合物は、すべての水素原子がフッ素原子に置換した炭

素鎖を持つ化学物質（ペルフルオロアルキル化合物）である。その特徴は、ペルフルオロアルキル鎖は環境中、生体内で分解不可能であり、その多くは最終的にカルボン酸、スルホン酸となり、安定化し、残留することである。多くのペルフルオロアルキル化合物の出発物質であり、また最終的に残留する物質として注目される化学物質に、PFOS とペルフルオロオクタン酸（PFOA）がある。いずれも産業用、民生用に多く使用されてきた代表的な化学物質であり、非常に難分解性である。また PFOS、PFOA による地球規模

での海生哺乳類、鳥類の汚染が報告されている[2-7]。また PFOS および PFOA は産業疫学の結果、膀胱癌、前立腺癌による死亡率の増加が示唆されている[8, 9]。動物実験ではラットへの PFOS の投与による慢性毒性試験において、肝細胞腺腫、甲状腺濾胞状細胞腺腫をもたらすことが、PFOA については雄ラットでライディッヒ細胞腺腫、雌ラットで乳房線維腺腫をもたらすことが報告されている[10, 11]。日本においては PFOS、PFOA は 2002 年に化審法指定化学物質と指定されている。

PFOS および PFOA の毒性についての研究は一次スクリーニングデータセットの収集が行われ、また初期ハザードアセスメントが提出されている[12, 13]。しかしながら環境汚染やヒトへの曝露の情報は限られており、これらの地域ごとの多様性、今後の汚染動向を明らかにする上で障害となっている。それらは調査のための精度、感度の高い分析法がなかったことも一因であった。

それゆえ環境試料、生物試料での PFOA、PFOS 分析法の開発を行い、日本における環境汚染と PFOS・PFOA 曝露の多様性、最近 25 年間での経時傾向を調査し、今後のリスク評価・管理のための基礎的情報を提供することを目的とする。

B. 研究方法

環境試料、生物試料中の PFOS・PFOA の測定のために高速液体クロマトグラフィ・質量分析法 LC/MS を用いた。表層水、飲料水の分析では、濃縮プロセスに固相カートリッジ（和光純薬工業 Presep-Agri）を用い、血清試料では対イオン添加有機溶媒抽出を行い、前処理を行い、LC/MS で分析した[14, 15]。

河川表層水は全国 79 箇所から横断的に採集され、分析まで 4°C で保存された（図 1）。また淀川水系において、淀川から、桂川、琵琶湖まで、神崎川から安威川まで、また大阪国際空港付近の 52 箇所について系統的に表層水を採集した（図 2）。さらに京都、大阪、兵庫、岩手、宮城、秋田における飲料水を採集した。

ヒト血清試料の取得のため、京都大学医学部・大学院医学研究科医の倫理委員会に研究計画を申請し、承認を得た。過去から現在までに日本における PFOS・PFOA への曝露がどのように推移するかを明らかにするため、他機関にて保存されている試料（秋田県横手市における 1990 年代の試料、宮城県大和町における 1977 年の試料）を譲渡してもらうため、試料は連結不可能匿名化して取得した。また現在のヒト曝露が年齢、性、地域の要因とどのように関わるかを明らかにするため、20 代から 50 代に渡り、男女について、京都市、秋田県横手市、宮城県大和町にて、ヒト血清試料を取得した。ヒト血清試料はインフォームドコンセントを書面にて得た上で、取得した。また当該地域での居住歴についても調査した。表 1 に研究対象集団の特性を掲げる。

C. 研究結果

PFOS・PFOA の分析法について岩手県環境保健研究センター環境科学部との共同研究で開発した。PFOS、PFOA いずれとも河川水で定量限界 0.1ng/L 以上を、血清試料で定量限界 0.1・g/L 以上を達成した。これらの定量限界で、今回採集した試料を分析した結果、いずれも定量限界以上であり、現時点で十分なものであった[14]。

ヒト曝露の経年的変化を明らかに

するためのヒト血清試料は宮城県大和町、秋田県横手市での現在と過去の試料が集められ、分析された(表2)。

この25年間における変化は宮城県大和町の女性について調査された。PFOSについて、幾何平均GM(幾何標準偏差GSD)は、1977年で $1.1 \cdot \text{g/L}$ (2.9)、2003年で $3.5 \cdot \text{g/L}$ (1.8)であり、この25年間で有意に増加していた($p < 0.001$)。またPFOAについてもGM(GSD)は、1977年で $0.2 \cdot \text{g/L}$ (2.0)、2003年で $2.8 \cdot \text{g/L}$ (1.5)であり、有意に増加していた($p < 0.001$)。

またこの11年間における変化は秋田県横手市の男女で調査された。PFOSについて、GM(GSD)は、1991年の男性で $10.2 \cdot \text{g/L}$ (1.5)、2003年男性で $12.9 \cdot \text{g/L}$ (1.5)であり、有意な増加はなく、1991年の女性で $7.9 \cdot \text{g/L}$ (1.4)、1995年女性で $8.7 \cdot \text{g/L}$ (1.3)、2003年女性で $6.9 \cdot \text{g/L}$ (1.4)であり、1995年女性はその前後の年の女性よりも有意であったが一貫しなかった。一方PFOAについては、GM(GSD)は、1991年の男性で $2.2 \cdot \text{g/L}$ (1.4)、2003年男性で $3.4 \cdot \text{g/L}$ (1.5)であり、有意な増加がみられ($p < 0.001$)、1991年の女性で $1.8 \cdot \text{g/L}$ (1.5)、1995年女性で $1.9 \cdot \text{g/L}$ (1.4)、2003年女性で $2.5 \cdot \text{g/L}$ (1.6)であり、2003年女性では有意に高かった($p < 0.05$)。

また2003年での京都市、横手市、大和町の間で地理的な要因がヒト曝露に与える影響について検討した(表3)。

まず、年齢の影響は、10歳間隔で20歳から59歳を区分し、差の有無をそれぞれの地域内、PFOA・PFOSで検討した。いずれの場合も年齢による差は見られなかった。

性別による影響はそれぞれの地域内、PFOA・PFOSで検討した。京都市、

横手市ではPFOA・PFOSともに男女の間で有意な差が見られた($p < 0.01$)。一方、大和町ではPFOSについては男女差が見られたが($p < 0.05$)、PFOAについては有意差がなかった。

現在での地域間での違いを男女でPFOA・PFOSについて検討した。PFOSについて、男女ともいずれの地域同士でも有意差が見られた($p < 0.001$)。PFOAについて、京都市は横手市、大和町より有意に高かった($p < 0.001$)。

また居住歴による影響について、京都市での男女で、PFOA・PFOSについて、近畿地方での居住歴が2年未満6ヶ月以上と2年以上に区分して検討した(表4)。PFOSについて女性では居住歴により有意差はなかった($p = 0.053$)。PFOAの男女とも、PFOSの男性では居住歴により有意差が見られた($p < 0.01$)。

この地域差を明らかにし、また現時点でのPFOA・PFOSによる国内の環境汚染を把握するため、国内の河川表層水について分析を行い、地域ごとに検討を行ったところ、特に、近畿でPFOS、PFOAによる水系の汚染が生じていた(表5)。さらに近畿での河川の汚染がどのように生じているのかを検討するため、淀川と神崎川などの系統的調査を行った(表6)。

淀川において河口付近(Y1-Y6)でPFOA濃度の上昇が見られた。また渚下水処理場処理水放流口(Y9)においてPFOA、PFOSともにその前後の地点より高い濃度を示した。鳥羽下水処理場付近(Y15, 16)でも同様の傾向を示した。猪名川と神崎川の分岐点(K10, K13)で猪名川ではPFOS、神崎川ではPFOAが上流に向かって上昇していた。

それぞれの汚染源を探索するため、大阪国際空港付近、安威川流域下水道中央処理場付近での表層水を分析し

た。

安威川流域下水道中央処理場放流口(A5)で PFOA 濃度は最大となり、それより上流では急激に減少した。大阪国際空港付近では、空港施設からの主要な放流口(04)において PFOS 濃度は最高になった。このほかの空港関連の水路(01, 03, 07)からも比較的高濃度で PFOS が検出された。空港に隣接する猪名川流域下水道原田処理場からの放流水(05)についても調査されたが 01, 03, 07 と同程度の濃度であった。

河川における PFOA・PFOS 汚染の様相が明らかになったが、これらがヒト曝露に与える影響、つまり飲料水の汚染を起こしうるか、近畿地方と東北地方について調査を行った(表7)。

東北地方(盛岡市、仙台市、横手市)では PFOA・PFOS いずれも 1ng/L 以下であった。これに対して、近畿地方(京都市、大阪市、尼崎市・神戸市)では PFOA はいずれも東北地方より有意に高い濃度を示し、PFOS については京都市、大阪市で他の地域より有意に高かった。

D. 考察

水系の PFOS・PFOA による汚染は都市部で高くなるが、近畿では特に PFOA による汚染が広がっている。汚染源について、PFOA・PFOS は下水処理場を通して放出されていると考えられているが、近畿では PFOS について空港施設、PFOA について安威川流域下水道処理場周辺に高汚染源があると考えられる。また飲料水中の PFOA・PFOS 濃度とその原水の取水地付近の濃度の関係から、現行の浄水過程により除去されないことを示す。これは多摩川での PFOS についての調査と同様の結果となった[16]。

PFOS・PFOA の血清中濃度はいくつかの要因によって影響を与えられることを示した。性別と居住地域が最も影響力を持った要因であり、他方年齢はあまり影響力を持っていないと考えられる。地理的な相違に関して、男性の血清中 PFOS と PFOA、女性の PFOA が長期近畿居住者で有意に高く、短期の近畿居住者であっても、秋田や宮城の居住者より高かったことは、近畿における水系汚染との関係を示唆するものである。PFOS については飲料水の汚染が一定の割合で血清中 PFOS レベルに影響を与える可能性が薬物動態モデルから示唆されている[16]。

米国住民の血中全有機フッ素化合物濃度が 30 年間で変化がなかったと考えられていたが[17, 18]、日本の東北地方においては PFOS・PFOA 濃度がこれまでの 25 年にわたって、それぞれ、3、14 倍に増加しており、傾向を正しく把握するためにも個別に PFOS、PFOA を定量的に測定することが必要であることを示している。

また近畿居住者の PFOA・PFOS の血清中レベルは米国の生物試料供給会社から集められたヒト血清サンプルでのレベルに近かったが[19]、現時点で東北地方は比較的汚染が少ないと考えられる。PFOS 曝露は、秋田におけるデータに基づけば 90 年代中ごろに、定常期に達したと考えられるが、それと対照的に、PFOA 曝露は秋田と宮城で増加していた。日本では PFOA 製造が多いことと PFOA 曝露の増加傾向は関連づけられるかもしれない。

もっとも、この研究はいくつかの限界がある。最初に、長期傾向を評価するためのサンプルの不足のため、一部の地域を選び、また試料の数も少なかった。今回の結果は日本人全体の PFOA・PFOS 曝露を代表するものではな

く、宮城と秋田で観察された長期傾向は他の地域に単純に当てはめられないのは当然である。これは地域差の解釈でも同じである。2つ目に、日本での PFOA・PFOS の曝露源が明らかになっていないため、飲料水を通した曝露が占める正確な割合は不明である。

E. 結論

国内における PFOS 類の環境汚染は、米国での報告に比べれば低いことが分かったが、近畿、関東地方ではそれと同等であることから今後汚染が広がっていく可能性が示唆された。また安威川における高濃度汚染源の由来、その影響の検討が必要である。PFOS 類のヒト曝露はこの 25 年間で有意に増加し、今後の傾向に注意が必要である。また曝露経路について、飲料水とヒト曝露の地域差などから水系を通した経路の寄与が少なくない可能性が示唆された。

今後、長期曝露傾向を、また曝露源を一般化していくための研究が必要である。特に食事からの PFOS・PFOA の摂取量は明らかにはなっていない。また近畿地区での高度な環境汚染の由来、それらの制御、管理にむけた取り組みを進めていかなければならないであろう。

引用文献

1. Renner, R., *Scotchgard scotched - Following the fabric protector's slippery trail to a new class of pollutant*. Scientific American, 2001. 284(3): p. 18-18.
2. Kannan, K., et al., *Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated hydrocarbons in marine mammals, fishes, and birds from coasts of the Baltic and the Mediterranean Seas*. Environ Sci Technol, 2002. 36(15): p. 3210-6.
3. Kannan, K., et al., *Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated hydrocarbons in mink and river otters from the United States*. Environ Sci Technol, 2002. 36(12): p. 2566-71.
4. Kannan, K., et al., *Concentrations of perfluorinated acids in livers of birds from Japan and Korea*. Chemosphere, 2002. 49(3): p. 225-31.
5. Kannan, K., et al., *Accumulation of perfluorooctane sulfonate in marine mammals*. Environ Sci Technol, 2001. 35(8): p. 1593-8.
6. Kannan, K., et al., *Perfluorooctane sulfonate in fish-eating water birds including bald eagles and albatrosses*. Environ Sci Technol, 2001. 35(15): p. 3065-70.
7. Giesy, J.P. and K. Kannan, *Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife*. Environ Sci Technol, 2001. 35(7): p. 1339-42.
8. Gilliland, F.D. and J.S. Mandel, *Mortality among employees of a perfluorooctanoic acid*

- production plant.* J Occup Med, 1993. 35(9): p. 950-4.
9. Alexander, B.H., et al., *Mortality of employees of a perfluorooctanesulphonyl fluoride manufacturing facility.* Occup Environ Med, 2003. 60(10): p. 722-9.
 10. Seacat, A.M., P.J. Thomford, and J.L. Butenhoff. *Terminal observations in Sprague Dawley rats after lifetime dietary exposure to potassium perfluorooctanesulfonate.* in *Society of Toxicology: 41st Annual Meeting.* 2002. Nashville.
 11. Biegel, L.B., et al., *Mechanisms of extrahepatic tumor induction by peroxisome proliferators in male CD rats.* Toxicol Sci, 2001. 60(1): p. 44-55.
 12. OPPT, U., *Preliminary Risk Assessment Of the Developmental Toxicity Associated with Exposure to Perfluorooctanoic Acid And its Salts.* 2003: p. 42-45.
 13. OECD, *HAZARD ASSESSMENT OF PERFLUOROOCTANE SULFONATE (PFOS) AND ITS SALTS.* 2002.
 14. Saito, N., et al., *Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentrations in surface waters in Japan.* Journal of Occupational Health, 2004. 46(1): p. 49-59.
 15. Saito, N., et al., *Perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan.* Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2003. 45(2): p. 149-158.
 16. Harada, K., et al., *Perfluorooctane sulfonate contamination of drinking water in the Tama River, Japan: Estimated effects on resident serum levels.* Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2003. 71(1): p. 31-36.
 17. Hansen, K. J., et al., *Compound-specific, quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices.* Environ Sci Technol, 2001. 35(4): p. 766-70.
 18. Guy, W.S., D.R. Taves, and W.S.J. Brey. *Organic Fluorocompounds in Human Plasma: Prevalence and Characterization.* in *Biochemistry involving carbon-fluorine bonds : Symposium at the 170th meeting of the American Chemical Society.* 1975. Chicago: 1976 American Chemical Society, Washington.
 19. Olsen, G.W., et al., *Human donor liver and serum concentrations of perfluorooctanesulfonate and other perfluorochemicals.* Environ Sci Technol, 2003. 37(5): p. 888-91.

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Saito, N., et al., Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentrations in surface waters in Japan. *Journal of Occupational Health*, 2004. 46(1): p. 49-59.

2. Harada, K., et al., The influence of time, sex and geographic factors on levels of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in human serum over the last 25 years. *Journal of Occupational Health*, 2004. in Press.

3. Sasaki, K., et al., Impact of airborne perfluorooctane sulfonate on the human body burden and the ecological system. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003. 71(2): p. 408-413.

4. Saito, N., et al., Perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003. 45(2): p. 149-158.

5. Harada, K., et al., Perfluorooctane sulfonate contamination of drinking water in

the Tama River, Japan: Estimated effects on resident serum levels. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003. 71(1): p. 31-36.

2. 学会発表

佐々木和明、齋藤憲光、金一和、原田浩二、小泉昭夫、環境試料中の PFOS の分析、第 12 回日本環境化学会討論会

齋藤憲光、八重樫香、佐々木和明、原田浩二、小泉昭夫、環境水中のパーフルオロオクタンスルホネート (PFOS) の分析、日本産業衛生学会第 62 回東北地方会例会

中西貞博、都築英明、筒井剛毅、佐々木和明、齋藤憲光、原田浩二、小泉昭夫、大気エアロゾル中の PFOS 濃度、第 44 回 大気環境学会年会

原田浩二、佐々木和明、齋藤憲光、吉永侃夫、小泉昭夫、国内河川・湾のペルフルオロオクタン酸 (PFOA) 汚染の調査と様相、第 43 回 近畿産業衛生学会

Kouji Harada, Norimitsu Saito, Kayoko Inoue, Takeo Yoshinaga and Akio Koizumi, A long-term trend of serum levels of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in Japanese. *米国トキシコロジー学会 (Society of Toxicology) 第 43 回年次総会*

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

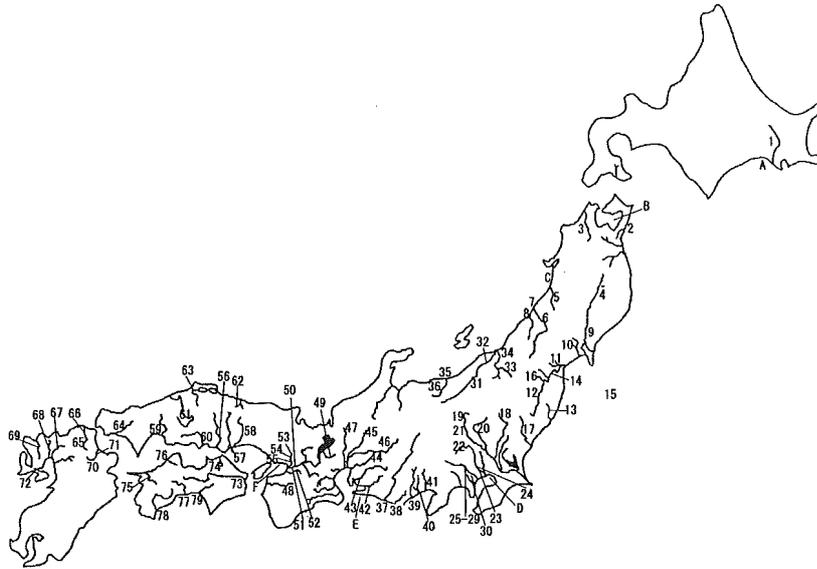


図1 河川表層水の国内横断的サンプリング地点 (数字：河川、英字：港湾)

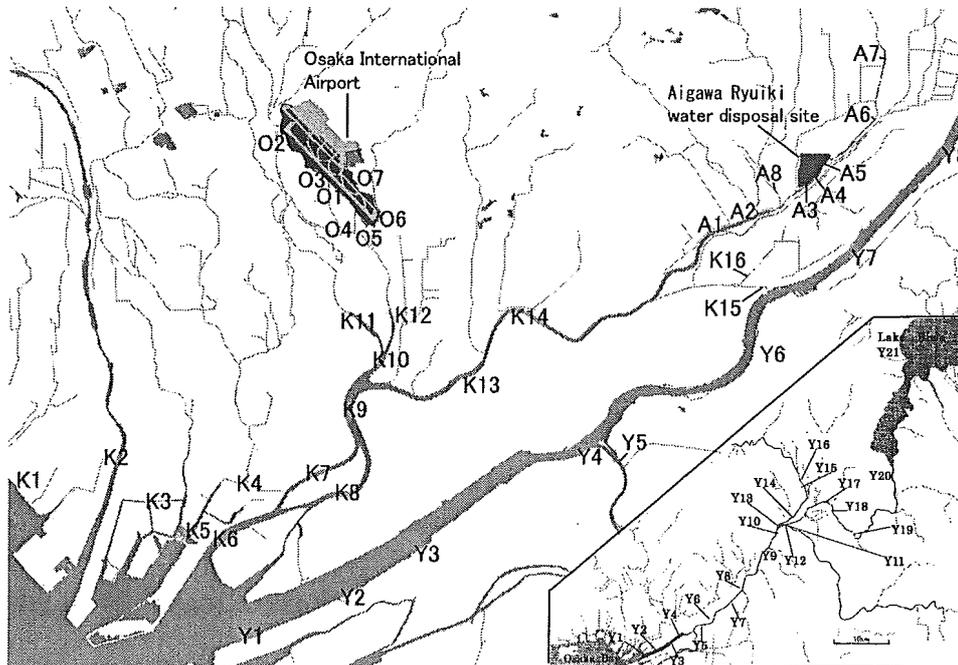


図2 淀川、神崎川水系表層水の系統的サンプリング地点

表1 研究対象集団の特性

地域	年代	男性	女性
京都	2003	参加者数	26
		年齢	36.6±11.7
		居住期間	
		2年以上	14
	2年未満	14	
宮城	2003	参加者数	23
		年齢	41.6±12.5
	1977	参加者数	39
		年齢	47.2±6.4
秋田	2003	参加者数	50
		年齢	33.5±12.2
	1995	参加者数	40
		年齢	36.3±2.6
	1991	参加者数	60
		年齢	34.5±7.2

年齢は平均±標準偏差

秋田、宮城の参加者の居住期間はいずれも2年以上

表2 血清中PFOA/PFOSの長期曝露傾向

地域	年代	男性				参加者数	女性				参加者数
		PFOS (µg/L)		PFOA (µg/L)			PFOS (µg/L)		PFOA (µg/L)		
		GM	GSD	GM	GSD		GM	GSD	GM	GSD	
宮城	2003	5.7	2.0	3.3	2.0	32	3.5	2.9	2.8	1.5	23
	1977	-	-	-	-	-	1.1	1.8	0.2	2.0	39
	p値	-		-			<0.001		<0.001		
秋田	2003	12.9	1.5	3.4	1.5	66	6.9 ^A	1.4	2.5 ^A	1.6	50
	1995	-	-	-	-	-	8.7 ^B	1.3	1.9 ^B	1.4	40
	1991	10.2	1.5	2.2	1.4	16	7.9 ^A	1.4	1.8 ^B	1.5	60
	p値	-		<0.001			<0.05 [#]		<0.05 [#]		

p値はt検定(但し#はシェフェの検定で異なる英字同士で有意差を示す)

GM:幾何平均、GSD:幾何標準偏差

表3 2003年におけるPFOS/PFOAの血清中濃度の地域差

地域	男性				女性				性別間でのt検定 p値
	参加者数	GM	GSD	ANOVA	参加者数	GM	GSD	ANOVA	
PFOS (µg/L)									
京都	14	28.1	1.5	A	20	13.8	1.5	A	<0.01
秋田	66	12.9	1.5	B	50	6.9	1.4	B	<0.01
宮城	32	5.7	1.8	C	23	3.5	2.9	C	<0.05
PFOA (µg/L)									
京都	14	12.4	1.4	A	20	7.1	1.4	A	<0.01
秋田	66	3.4	1.5	B	50	2.5	1.6	B	<0.01
宮城	32	3.3	2.0	B	23	2.8	1.5	B	

ANOVA: 異なる英字同士で有意差を示す (P<0.001).

GM:幾何平均、GSD:幾何標準偏差

表4 近畿での血清中PFOA/PFOS濃度の居住期間による違い

居住期間	男性			女性		
	2年以上	6ヶ月以上	p値	2年以上	6ヶ月以上	p値
参加者数	14	14		20	6	
PFOS (μg/L)						
GM	28.1	21.8	<0.01	13.8	9.4	0.053
GSD	1.5	1.7		1.5	1.3	
PFOA (μg/L)						
GM	12.4	7.1	<0.01	7.1	3.7	<0.01
GSD	1.4	1.4		1.5	1.3	

p値は居住期間についてのt検定

GM:幾何平均、GSD:幾何標準偏差

表5 国内の河川表層水PFOA/PFOS濃度の地域間の比較

地域	採集数	PFOA		PFOS	
		GM(ng/L)	GSD	GM(ng/L)	GSD
北海道-東北地方	16	0.97	3.06	1.19	2.44
関東地方	14	2.84	3.56	3.69	3.93
中部地方	17	2.50	2.23	1.07	2.36
近畿地方	8	21.5	2.28	5.73	3.61
中国地方	9	1.51	2.28	1.00	3.42
九州-四国地方	15	1.93	2.4	0.89	3.09

GM:幾何平均、GSD:幾何標準偏差

表6 淀川、神崎川水系でのPFOA/PFOS汚染源について系統的調査

位置	PFOA	PFOS	位置	PFOA	PFOS	位置	PFOA	PFOS
	(ng/L)	(ng/L)		(ng/L)	(ng/L)		(ng/L)	(ng/L)
淀川水系			神崎川水系			大阪国際空港付近		
Y1	563	6.5	K1	215	4.1	O1	39.2	96.0
Y2	463	5.8	K2	40.6	11.0	O2	40.8	9.6
Y3	313	5.8	K3	153	3.3	O3	36.4	57.2
Y4	271	6.3	K4	44.7	1.4	O4	56.6	526
Y5	46.8	13.3	K5	122	2.5	O5	64.4	73.2
Y6	104	4.9	K6	1040	10.9	O6	55.0	10.2
Y7	31.1	11.0	K7	1270	18.2	O7	41.2	30.4
Y8	31.8	10.1	K8	1690	15.7	安威川流域下水道		
Y9	147	26.9	K9	3750	23.3	中央処理場付近		
Y10	33.7	7.3	K10	430	28.8	A1	19400	11.7
Y11	11.3	3.4	K11	80.9	9.4	A2	24080	9.1
Y12	18.5	2.6	K12	47.6	86.2	A3	39500	8.3
Y13	80.9	27.7	K13	4220	14.1	A4	42950	6.1
Y14	30.8	7.5	K14	7990	13.9	A5	67000	13.0
Y15	64.9	24.8	K15	101	7.0	A6	124	1.9
Y16	39.7	24.1	K16	531	6.2	A7	76.0	1.8
Y17	6.6	1.7				A8	3750	20.2
Y18	6.8	2.6						
Y19	4.5	2.5						
Y20	9.3	3.6						
Y21	7.5	1.5						

表7 飲料水中PFOA/PFOS濃度

地域	府県	市名	採集数	PFOA (ng/L)		PFOS (ng/L)	
				GM	GSD	GM	GSD
近畿	兵庫	尼崎・神戸市	5	12.5 ^B	1.6	1.1 ^B	4.3
	大阪	大阪市	5	40.0 ^A	1.1	12.0 ^A	1.1
	京都	京都市	5	5.4 ^C	1.5	4.9 ^A	2.0
東北	岩手	盛岡市	5	0.7 ^D	1.5	0.2 ^B	2.0
	宮城	仙台市	5	0.13 ^E	1.3	<LOQ ^B	-
	秋田	横手市	5	0.12 ^E	1.2	<LOQ ^B	-

GM:幾何平均、GSD:幾何標準偏差、<LOQ:定量限界以下(計算上0.1と見なす)
異なる英字同士はシェフェの検定で有意差を示す (p<0.05).