

厚生労働科学研究費補助金  
食品の安心・安全確保推進研究事業

生体試料バンクを有効活用した  
食の安全と安心の基盤形成

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者・ 小泉 昭夫  
京都大学大学院医学研究科

## 目 次

### I. 総括研究報告

- 生体試料バンクを有効活用した食の安全と安心の基盤形成 ..... 1  
小泉 昭夫

### II. 分担研究報告

1. 食事中試料の汚染化学物質の分析手法の検討 ..... 11  
高菅 卓三
2. 日中韓越の食事試料中の PFC s 分析法の確立.....14  
小泉 昭夫  
原田 浩二  
(藤井 由希子)
3. 日中韓の母乳試料中の長鎖有機フッ素化合物(Long chain PFCAs)  
分析手法の確立 .....18  
小泉 昭夫  
原田 浩二  
(藤井 由希子)
4. 汚染が懸念される物質のモニタリングー日中韓越の食事試料.....24  
小泉 昭夫  
原田 浩二  
高菅 卓三
5. 汚染が懸念される物質のモニタリング・日中韓の母乳試料の比較：ジコ  
ホール .....33  
原口 浩一  
(藤井 由希子)
6. 汚染が懸念される物質のモニタリングー日中韓の母乳試料：エンドス  
ルフアン .....45  
原口 浩一  
(藤井 由希子)
7. 汚染が懸念される物質のモニタリングー日中韓の母乳試料：残留性有機  
汚染物質の評価その1 .....49  
原口 浩一  
(藤井 由希子)
8. 汚染が懸念される物質のモニタリングー日中韓の母乳試料：残留性有  
機汚染物質の評価その2 .....66  
原口 浩一  
(藤井 由希子)
9. 日韓越での血液中難分解性有機フッ素化合物の汚染源の検討.....77  
小泉 昭夫  
原田 浩二

- (藤井 由希子)
10. 系統的持続的な試料の収集－アジア地域の試料の整備-----86  
小泉 昭夫  
渡辺 孝男  
原田 浩二  
(人見 敏明)  
(新添 多聞)  
(藤井 由希子)
11. 系統的持続的な試料の収集－国内試料の採取 -----89  
小泉 昭夫  
原田 浩二  
(人見 敏明)  
(新添 多聞)  
(藤井 由希子)
12. Environmental ecological modeling を用いた食事中鉛に対するヒト曝  
露評価 -----92  
小泉 昭夫  
渡辺 孝男  
原田 浩二  
(人見 敏明)  
(新添 多聞)
13. 大気輸送モデルを用いた短鎖塩素化パラフィン汚染源の推定-----117  
小泉 昭夫  
原田 浩二  
(新添 多聞)
14. 食の安全のための国際協力とリスクコミュニケーション-----133  
小泉 昭夫  
原田 浩二

※( ) は研究協力者。

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）  
総括研究報告書

生体試料バンクを有効活用した食の安全と安心の基盤形成

研究代表者 小泉 昭夫 京都大学医学研究科

研究要旨：

我が国の食料自給率はカロリーベースで40%程度であり、多くの食料を海外に依存している。食の安全を確保するために、平成18年の5月から、ポジティブリスト制度が導入されることになった。本制度は、画期的な法制度と考えられるのであるが、諸外国での不正な使用が行われてきたDDTなどのPOPs(Persistent Organic Pollutants)やメラミンなどは捕捉できない可能性がある。そこで、適切なリスク管理には、主な生産国および我が国でランダムサンプリングによる食事からの曝露評価の情報も活用することが安全である。また特殊な事例として乳児に関しては、母乳を通じた間接的な曝露評価を行うことも必要になる。我々の研究目的は、生体試料バンクを有効活用し、現行のポジティブリスト制度を補完し、食の安全と安心の基盤を強化することである。昨年引き続き、食事中試料の汚染化学物質の分析手法の検討、汚染が懸念される物質への対応、継続的モニタリング、系統的持続的な試料の収集、汚染同定のための環境生態系モデリング手法の確立、日中韓3国の専門家による意見交換および市民フォーラムの諸活動を行った。

小泉 昭夫	京都大学医学研究科・教授
渡辺 孝男	東北文教大学・教授
原口 浩一	第一薬科大学・教授
高菅 卓三	愛媛大学沿岸環境科学研究センター 兼 島津テクノリサーチ 部長
中塚 晴夫	宮城大学 教授
原田 浩二	京都大学医学研究科・准教授
新添 多聞	京都大学医学研究科・研究員
人見 敏明	京都大学医学研究科・講師
岩沢 ころろ	京都大学医学研究科・助教
藤井 由希子	京都大学医学研究科・大学院生

1. 食事中試料の汚染化学物質の分析  
手法の検討

A. 研究目的

化学物質による曝露を捉える上で、  
未知の物質の探索、感度の高い検出機

器の使用は、汚染の未然予防に必要である。本年度は、昨年引き続き最新のガスクロマトグラフ・飛行時間型(Time Of Flight)質量分析計(GC-TOFMS)を用い食事分析に応用した。また、高い感度を前処理、誘導

体化および検出機器の工夫により有機ペルフロロカルボン酸類の一斉分析法を開発した。

## B. 研究方法

対象は食事試料、および母乳試料とした。未知物質の探索では、使用機器は、高分解能型ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-HRMS) を用いた分析技術で、より高感度で効率化を目指した。新規 POPs については GC-HRMS の他に、液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて、最適化を図った。

有機ペルフロロカルボン酸については、所定の抽出手法を用い、ベンジルエステル誘導体化した。分析機器は GC/MS (Agilent 6890GC/ 5973MSD, Agilent Technologies Japan, Ltd., Tokyo, Japan) を用い化学イオン化陰イオンモードで分析した。

## C. 研究結果

POPs、新規 POPs、POPs 候補物質についてより高感度で効率よく有機ハロゲン化合物の測定が可能となった。新規 POPs については GC-HRMS と C-MS/MS を用いて、対象とする化学物質の測定が可能となった。

食事試料中の有機ペルフロロカルボン酸 (PFCAs) については、高山で採取したサンプル1つのみであるが炭素長 C8-C12 のサンプルが検出された。

母乳中の (PFCAs) については、炭素長 C8-C13 の化合物が検出された。日中韓の3国で採取した母乳を比較したところ、C8, C9, C10, C11 で日本が中韓に比べ有意に高く差異が認められた。

## D. 考察

前処理を十分に行い、GC-HRTOFMS あるいは C-MS/MS を

用いることにより食事中的ハロゲン化合物の検出感度は著しく増加した。

また、今回開発した方法は、食事あるいは母乳・血液など生体試料中の PFCAs を高感度で検出可能とした。この手法を持ちたところ、欧米とは異なる PFCAs のプロファイルが明らかとなった。

## 2. 汚染が懸念される物質のモニタリング

### 課題1—日中韓越の食事試料

#### A. 研究目的

我が国における食事試料中の化学物質の調査はヒトへの暴露を調べる上で重要であり、また多くを中国や韓国に依存している事からも汚染レベルのタイムトレンドを調査する必要がある。京都大学生体試料バンク保存試料を用いて POPs および POPs 候補物質等を調査した。1 試料は5人の一日の食事を混合調製して1試料とし計60試料、延べ約300人分の食事調査とし、京都 1996 or 1997, 2005; 沖縄 1992 or 1995; 北海道 1992 or 1995), 韓国 (ソウル 1994, 2007; プサン 2008) 中国 (1993, 2009) を1990年代と2000年代の比較を行った

#### B. 研究方法

京都大学生体試料バンク保存試料の採取では1試料には5人の一日の食事を混合調製して1試料とし計60試料、延べ約300人分の食事調査とし、京都 1996 or 1997, 2005; 沖縄 1992 or 1995; 北海道 1992 or 1995), 韓国 (ソウル 1994, 2007; プサン 2008) 中国 (1993, 2009) を用いた。また、食事以外に、汚染源として疑われる中国各地および日本国内で市販されてい

る食用油、乳製品を本年度採取し分析した。

### C. 研究結果

356種のポジティブリスト農薬およびメタミドホス、アセフェート、ジクロロボス、ナレドは3地域の最近の試料では基準値[0.01 µg/g (wet weight basis)]以下であった。

1993年の北京(中国)試料では、他と比べても比較的高いレベルでHCHs DDTs(主にp,p'-DDE)が確認された。北京と日本の3地域(沖縄、京都、北海道)では食事の総POPレベルは1990年代から2000年代で減少傾向が確認されたがソウルでは一部のPOPで1994年に比べて2007年に上昇傾向がみられた。また、POP候補物質のエンドスルファン( $\alpha$ -and  $\beta$ -Endosulfan)のレベルは明らかに中国と韓国で上昇傾向がみられた。

食事の短鎖塩素化パラフィン(SCCP)については、1990年代中葉に比較し2009年において日韓において増加は認められないが、中国においては、100倍以上の増加が認められた。上海、北京、瀋陽、香港、横浜で購入した食用油および乳製品、油菓子を分析したところ、高濃度に汚染が確認されたのは、油類であった。食事由来の一日摂取量は、北京の住民で53gと推定される。また、食用油等の分析では、中国国内で販売されている油脂類に多く、菓子類や乳製品の濃度は低い。また我が国で輸入油脂類でも検出され、最高値の検体もみられた。

### D. 考察

バンク試料を用いて日中韓の食事試料中の化学物質の汚染レベルのタイムトレンドを調査した結果、1990年代の北京試料でPOPが高い傾向、

その後の2000年代ではどの国も減衰傾向が確認された。POP候補物質のエンドスルファンのレベルは明らかに中国と韓国で上昇傾向がみられた。高レベルのSCCPが2009年の北京の試料で確認された。中国北京での食用油の一日一人当たりの使用量を32g([http://news3.xinhuanet.com/fprum/2004-10/12/content\\_2087980.htm](http://news3.xinhuanet.com/fprum/2004-10/12/content_2087980.htm))とし、大豆油~からし菜湯、ごま油を利用したとすると、北京住民の概ね50%をは油脂類により説明できる。従って現状では汚染源は食用油が主な汚染源と考えるのが妥当であろう。中国から我が国に輸入されている食用油の濃度でも検出され、それらの使用による汚染の可能性もあり、今後引き続き警戒が必要である。

### 課題2-日中韓越の母乳試料のモニタリングー：ジコホールおよびエンドスルファン

#### A. 研究目的

東アジア3国で採取した母乳は、其々の国で特徴ある汚染パターンを示す。母乳に残留するDDT濃度は日本・韓国に比べ高いことが知られている。

近年ストックホルム条約では、エンドスルファンの上程を検討している。

そこで、本年度は、DDTの由来と考えられているジコホールおよびエンドスルファンの評価を行った。

#### B. 研究方法

母乳試料は京都大学生体試料バンク(Koizumi et al., 2005; Koizumi et al., 2009)の保存試料を使用し、総計210人の母親から14プール試料を得た(15人分の母乳試料 各1 mLをとり1プール15 mLとした)。試料は2007年

から2009年の間に中国(60人、北京)、韓国(60人、ソウル/プサン、日本(90人)のボランティアから採取された。

ジコホールの分析においては、<sup>13</sup>C-labeled 2,3,4,5,6,3',4',5'-octachlorobiphenyl (CB-205; AccuStandard Inc., CA, USA) をジコホールとDDT類の内部標準として用い、分析にはGC/MS Agilent GC/MSD 5973i, 6890N GCを用いた。

エンドスルファンのにおいては、GPC(gel permeation chromatography, Bio-Beads S-X3)で目的成分を分離し、GC/MS装置はAgilent GC/MSD 5973i, 6890N GCを用いた。定性定量には負イオン化CIモードのイオン検出法を用いた。

#### C. 研究結果

ジコホールは日本・宝塚を除く5地域の母乳で検出された。母乳中ジコホールの幾何平均は日本で0.3 ng/g lipidであり、中国(9.6 ng/g lipid)、韓国(1.9 ng/g lipid)より有意に低かった( $p < 0.05$  by Tukey's HSD test)。DDT濃度は中国で1358 ng/g lipidであり、日本(120 ng/g lipid)、韓国(144 ng/g lipid)より約10倍高かった。

$\alpha$ -エンドスルファンの平均濃度 (ng/g lipid) は、日本で1.1 (仙台0.87、高山1.2、宝塚1.1)、韓国で1.3 (ソウル1.4、プサン1.3)、中国北京で0.95であった。 $\beta$ -エンドスルファンの平均濃度 (ng/g lipid) は日本で0.09 (仙台0.11、高山1.10、宝塚0.09)、韓国で0.09 (ソウル0.10、プサン0.08)、中国北京で0.06であった。

#### D. 考察

本研究では、母乳中のジコホールを定量分析することに成功した。中国の母乳においてジコホール濃度はDDT

総濃度に比べると2桁低いng/g lipidのレベルであることが分かった。本研究結果は、母乳中のDDT類の由来はtechnical DDTの長期蓄積によるもので、ジコホール製品中の不純物DDTの由来であるとは考えにくい。

エンドスルファンの乳児の一日推定摂取量を算出したところ、全ての母乳サンプルでprovisional tolerable daily intake (PTDI)の0.1-0.3%と低い値であった。以上からリスクは低いものと考えられた。

#### 課題3-1. 汚染が懸念される物質のモニタリングー日中韓の母乳試料：残留性有機汚染物質の評価

##### A. 研究目的

昨年度の研究において、母乳では日本は中国や韓国よりPCBやクロルデン類(CHLs)が比較的高い汚染傾向にあることを報告した。本研究では、日本で収集した母乳中のPOPsを詳細に調査し、汚染の地域差、年齢差、出産回数、POPs濃度間の相関および乳児の推定摂取量とその評価を行った。

##### B. 研究方法

母乳試料は京都大学生体試料バンク (Koizumi et al. 2005; 2009)の保存試料から総計200人の試料を分析対象とした。母乳試料5mLに内標準(<sup>13</sup>C-cis-CHL および 4-methoxy-BDE121)を加え、GC/MSはAgilent GC/MSD-5973i に6890N-GCを接続した装置を用いた。

##### C. 研究結果

母乳POPs関連物質の残留分布は、(1) DDTs, PCBs, HCHs, CHLsのグループ(49-120 ng/g lipid), (2) HCB, heptachlorepoxyde (HCE),

dieldrin のグループ (2.8-8.3 ng/g lipid), および (3) toxaphene, endosulfan, dicofol, BDE-47 のグループ (0.4-2 ng/g lipid) に分けられた。グループ(2)では HCB が北海道で、dieldrin が沖縄で有意に高濃度を示した。endosulfan以外で POPs濃度間に相関性が見られた。グループ(1)および (2)はいずれも初産婦が経産婦より有意に濃度が高かった。加齢とともに母乳PCB濃度は上昇傾向を示した(p<0.05)。しかしそれ以外のPOPsと年齢との間には有意な相関はみられなかった。

#### D. 考察

地域差、年齢差等が明らかになった。CHLsにおいては、乳児の推定平均摂取量はCHLsの暫定耐容一日摂取量(PTDI=0.5 µg/kg-body wt/day)の45%に相当し、全試料の6.5%がPTDIを超過した。地域別にみると、沖縄で2/20(10%), 山口で5/20(25%), 宝塚で1/20(5%), 京都で2/20(10%), 東京で1/20(5%)と山口で多い傾向がみられた。

### 3. 系統的持続的な試料の収集

課題3-2.汚染が懸念される物質のモニタリング-日韓越での血液中難分解性有機フッ素化合物の汚染源の検討

#### A. 研究目的

有機フッ素化合物ペルフルオロオクタン酸(PFOA)環境汚染は、近年詳細な研究がなされ、世界的な規模での汚染の広がり経年動向が明らかにされてきた。PFOAの主な製造企業の製造からの撤退により、汚染強度は減少傾向にある。この一方、類縁の

PFCAsにおいては、詳細は不明である。そこで、本研究においては、1990年、2000年初頭、現在の3時点で採取された日中韓の血液を用いて、経年変化を評価した。

#### B. 研究方法

京都大学生体試料バンクで収集された日韓越において採取された521名の成人を用いて血中有機フッ素カルボン酸(PFCAs)の曝露を評価した。試料は、臭化ベンジルアセトンで誘導体化の後、Agilent社ガスクロマトグラフィ質量分析機で分析した。

#### C. 結果

C6, C14は全ての検体で検出されなかったため解析から除外した。有機フッ素カルボン酸(PFCAs)調査で得られた521名のデータを使用し、共通する因子を抽出するため因子分析を行った。2つの主要因子を明らかにした。特徴的なPFCA組成は因子1に対応するPFUnDAとPFTrDAなどの奇数鎖PFCAsであった。特にPFOAが低濃度であるハノイでも、PFUnDAは、日韓と同等の血中濃度を示した。

#### D. 考察

PFOAより長い鎖長のPFCAsのレベルは近年大幅に日本と韓国で上昇していた。長鎖PFCAレベルは、ほとんどの地点でPFOA濃度を超えた。この知見は、東アジアにおける食事等の曝露源の存在を示唆している。

課題4-系統的な血液・母乳および食事試料の採取

#### A. 研究目的

本年度も、はこれまでに試料バンクに収集されてきた東アジアの地域に



ついて、追跡調査を実施する。成人女性を対象に母乳、食事の各試料を収集し、ヒト生体試料バンクに収納・登録した。また国内については、過去のサンプルを充実することを目的とした。

## B. 研究方法

京都大学大学院医学研究科の「医の倫理委員会」より、「POPs のリスク評価に向けてのヒト曝露長期モニタリングのための試料バンク創設に関する研究」の承認を得て、本研究は実施された。また各国の協力機関の倫理委員会、関係当局から承認、許可を得た。

宮城教育大学に保存されているサンプルの整備をおこなった。また北京市で、スーパーマーケット、小売店、市場において複数銘柄の油脂、乳製品試料を購入した。

また母乳および採血および問診票の記入による寄贈の協力を呼びかけた。

また食事試料の採取も計画した。

## C. 研究結果

宮城教育大学名誉教授でもある、渡辺により保存されていた 438 件の血液試料を京都大学生体試料バンクに輸送し、検体の状況を整理し、記録、収納した。中国のほか、タイ、日本国内の 1990 年代の試料があった。もっとも古い試料では 1978 年の香川県多度津町の試料が寄贈された。

油脂、乳製品試料 74 検体を採取した。このうち、2 件の油脂は市場において購入したが、正規のものではなく使用済みの調理油を回収して販売しているものであった。

京都府内で 50 検体の血液を採取した。また、母乳については全国で、162 検体を採取した。

食事者は 30 代の男性を想定した。岐

阜県、富山県、石川県各 10 件の合計 30 食日分の検体を試料バンクに収納、登録した。

## D. 考察

ほぼ予定通り生体試料および食事を採取した。中国で、いわゆる「地溝油」を採取した。この地溝油においては、高い濃度の短鎖塩素化パラフィンを検出し有用な汚染源情報となった (II-4) 参照のこと。

## 課題 5. 越境汚染が懸念される短鎖塩素化パラフィンおよび鉛の汚染源の推定

### A. 研究目的

大陸からの越境汚染が生じている物質として鉛が知られている。我々は、越境汚染のモデル化に成功した。このモデルの妥当性をさらに検証する目的で、ベトナムにおける大気中鉛、ヒトにおける血中鉛濃度を予測し実測値と比較し検討した。

また、今年度我々は中国において 1990 年代と 2010 年の比較において食事中に短鎖塩素化パラフィン類 (SCCPs) が 2 ケタ以上の増加していることを見出した。この汚染源として所謂地溝油によるものと考えられるが、中国において大量の SCCPs が生産されていることが背景にある。この一方我が国および韓国では、現在食事中の SCCPs は過去の値に比べて増加傾向は確認されない。今回中国および我が国の SCCPs の汚染源の探索のためモデル化を行うことにした。

### B. 方法

鉛の simulation においては、一日摂取量および血中濃度の測定値については京都大学生体試料バンクの試料

を用いた。またSCCPsについては大気中濃度の予測を試みた。鉛およびSCCPsとも既に報告した我々が開発した Environmental Ecological Modeling (EEM) を用いた。このモデルは、大気輸送モデルと生理学的薬物動態モデルの2つのモジュールを有している。

### C. 結果と考察

ベトナムのハノイに在住する小児の血中鉛の計算値はよく実測値に一致した。このことより我々のEEMの妥当性は高い。

ついでEEMの大気輸送モジュールを用いて、汚染源が中国にある場合、我が国の工場地帯にある場合の2つをsimulationし、種々の気象条件での濃度の変動をみた。これら2つのケースにおいて濃度変化を支配する気象条件が大きく異なることが示された。国内の汚染源が卓越する場合はローカルな風の状態が強く影響し、国外の汚染源が卓越する場合は広域スケールにおける風の場の影響が強い。今後の大気中濃度のモニタリングの結果と比較することにより、汚染源を特定するうえで重要な手掛かりとなるものである。

## 課題6. 国際協力とリスクコミュニケーション

### A. 研究目的

「生体試料バンクを有効活用した食の安全と安心の基盤形成」ではモニタリング手法の開発、汚染物質調査、データベース構築、系統的試料の収集とならび、国際協力とリスクコミュニケーションは重要な課題の一つである。「食の安全」をテーマにした市民シンポジウムや、我が国と中韓越の専門家の情

報交換の会を開催することにより、市民および専門家間の情報の共有化の促進をはかる。特に4カ国の食品産業の動向に関する専門家間の情報交換は、汚染防止には有効と考えられる。

### B. 研究方法

今年度は市民参加の国際協力とリスクコミュニケーションに関わるシンポジウムを開催し、有識者と一般市民、専門家が交流し意志の疎通を図った。また、日中韓の専門家と情報交換を行った。

### C. 結果と考察

多くの市民は、環境汚染の生じる食の汚染にたいして関心は高い。中国の専門家との意見交流で、食品産業において小事業が多く、法令順守の気風が浸透していない点が指摘された。

### D. 結論

本研究の目的である食事中試料の汚染化学物質の分析手法の検討、汚染が懸念される物質への対応、系統的持続的な試料の収集、国際協力「について、当初の予定の通りに実施できた。

### E. 健康危険情報

消費者庁から2010年4月14日付で「日本に輸入される食用油等および飼料用油脂等の衛生管理の徹底について」との警告がなされました。この警告の様に中国国内で市販されている食用油は、短鎖塩素化パラフィンによる汚染が認められました。また日本に輸入されてきた食用油でも同様に検出されました。短鎖塩素化パラフィンは工業用に利用されることから、工場からの排水と生活排水がまじりあった廃液からの再生油(所謂「地溝油」)が広く中国で流通していると考えら

れます。中国製食用油および食用油を利用した食品については厳格な対応が必要と考えられます。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Koizumi A, Azechi M, Shirasawa K, Saito N, Saito K, Shigehara N, Sakaue K, Shimizu Y, Baba H, Yasutake A, Harada K, Yoshinaga T, Ide-Ektessabi A. Reconstruction of human exposure to heavy metals using synchrotron radiation microbeams in prehistoric and modern humans. *Environ Health Prev Med.* 2009; 14:52-59.

A. Koizumi, K. Harada, B. Eslami, Y. Fujimine, N. Hachiya, I. Hirose, K. Inoue, S. Inoue, S. Koda, Y. Kusaka, K. Murata, K. Omae, N. Saito, S. Shimbo, K. Takenaka, T. Takeshita, H. Todoroki, Y. Wada, T. Watanabe and M. Ikeda. Paradoxical increases in dietary intakes from 1980 to 2003 in Japan, *Environ. Health Prev. Med.* 2009, 14:235-246

A. Koizumi, K. Harada, K. Inoue, T. Hitomi, H-Y. Yang, C-S. Moon, P. Wang, N.N. Hung T. Watanabe, S. Shimbo and M. Ikeda. Past., present, and future of environmental specimen banks, *Environ. Health Prev. Med.* 2009, DOI 10.1007/s12199-009-0101-1

Kärman A, Harada KH, Inoue K, Takasuga T, Ohi E, Koizumi A. Relationship between dietary exposure and serum perfluorochemical (PFC) levels - a case study. *Environ Int* 2009; 35: 712-717.

Niisoe T E, Nakamura, K. Harada, H. Ishikawa, T. Hitomi, T.,

Watanabe, Z. Wang, A. Koizumi, A global transport model of lead in the atmosphere. *Atmos Environ.* Accepted 7 Jan 2010

Harada KH, Yang HR, Moon CS, Nguyen GH, Hitomi T, Inoue K, Niisoe T, Watanabe T, Kamiyama S, Takenaka K, Kim MY, Watanabe K, Takasuga T, Koizumi A, Levels of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid in female serum samples from Japan in 2008, Korea in 1994-2008 and Vietnam in 2007-2008. *Chemosphere.* Accepted 18 Jan, 2010

Haraguchi K, Hisamichi Y, Kotaki Y, Kato Y, Endo T. Halogenated bipyrroles and methoxylated tetrabromodiphenyl ethers in tiger shark (*Galeocerdo cuvier*) from the southern coast of Japan. *Environ. Sci. Technol.* 2009, 43, 2288-2294.

Haraguchi K, Hisamichi Y, Endo T. Accumulation and mother-to-calf transfer of anthropogenic and natural organohalogens in killer whales (*Orcinus orca*) stranded on the Pacific coast of Japan. *Sci. Total Environ.*, 2009, 407, 2853-2859.

M. Ikeda, T. Watanabe, F. Ohashi and S. Shimbo. Effects of variations in cadmium and lead levels in river sediments on local foods and body burden of local residents in non-polluted areas in Japan, *Biol. Trace Elem. Res.* 2009, DOI 10.1007/s12011-009-8436-4

K. Haraguchi, A. Koizumi, K. Inoue, K. Harada, T. Hitomi, M. Minata, M. Tanabe, Y. Kato, E. Nishimura, Y. Yamamoto, T. Watanabe, K. Takenaka, S. Uehara, H-R. Yang, C-S. Moon, H-S. Kim, P. Wang, A. Liu and N.N. Hung. Levels and regional trends of persistent organochlorines and polybrominated diphenyl ethers in Asian breast milk demonstrate POPs signatures unique to

individual countries, *Environment International* 2009, 35:1072-1079

Endo T, Hisamichi Y, Kimura O, Kotaki Y, Kato Y, Ohta C, Koga N, Haraguchi K. Contamination levels of mercury in the muscle of female and male spiny dogfishes (*Squalus acanthias*) caught off the coast of Japan. *Chemosphere*, 2009, 77, 1333-1337.

Kato Y, Haraguchi K, Kubota M, Seto Y, Ikushiro S, Sakaki, T, Koga N, Yamada S, and Degawa M: 4-Hydroxy-

2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in mice occurs through increase in accumulation of thyroxine in the liver. *Drug Metab. Dispos.* 2009, 37, 2095-2102.

Kato Y, Okada S, Atobe K, Endo T, Matsubara F, Oguma T, Haraguchi K. Simultaneous determination by APCI-LC/MS/MS of hydroxylated and methoxylated polybrominated diphenyl ethers found in marine biota. *Anal. Chem.* 2009, 81, 5942-5948.

Kato Y, Haraguchi K, Kubota M, Seto Y, Okura T, Ikushiro S, Koga N, Yamada S, Degawa M. A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by a TCDD-like PCB congener, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in mice. *Drug Metab. Dispos.* 2009, in press.

Harada, K.H., Hitomi, T., Niisoe, T., Takenaka, K., Kamiyama, S., Watanabe, T., Moon, C.S., Yang, H.R., Hung, N.N., Koizumi, A., 2011. Odd-numbered

perfluorocarboxylates predominate over perfluorooctanoic acid in serum samples from Japan, Korea and Vietnam. *Environ Int* in press.

## 2. 学会発表

原田浩二、Moon Chan-Seok、Yang

Hye-Ran、人見敏明、井上佳代子、新添多聞、渡辺孝男、加美山茂利、竹中勝信、小泉昭夫、東アジアにおける血中有機フッ素化合物の変遷、日本産業衛生学会 第37回有機溶剤中毒研究会・第42回生物学的モニタリング・バイオマーカー研究会、2009年10月17日

藤井由希子、原口浩一、井上佳代子、原田浩二、人見敏明、Moon Chan-Seok、Yang Hye-Ran、渡辺孝男、竹中勝信、上原茂樹、小泉昭夫、日中韓越の母乳試料中残留性有機塩素化合物と臭素系難燃剤濃度の特徴的分布、日本産業衛生学会 第37回有機溶剤中毒研究会・第42回生物学的モニタリング・バイオマーカー研究会、2009年10月17日

廣野留都、武蔵正明、中下留美子、鈴木彌生子、伊永隆史、原田浩二、小泉昭夫、炭素・窒素安定同位体比分析によるヒト血清中アミノ酸と食料源の関係評価、2009年度 日本地球化学学会年会、2009年9月15-17日

原田浩二、高橋慧、桜町惟、古川和良、大野佐代子、小泉昭夫、受動捕集法による室内空气中フルオロテロマー類の分析とヒト曝露の推定、第18回 日本環境化学学会討論会、2009年6月9-11日

高菅卓三、松神秀徳、嶽盛公昭、GC-HRTOFMS による環境試料の高感度・高精度スクリーニング分析の有用性評価、第18回 日本環境化学学会討論会、2009年6月9-11日

Takumi Takasuga, Hiroaki Takemori, Hidenori Matsukami, Tsuyoshi Inoue, EVALUATION OF GC-HR-TOFMS TECHNIQUES APPLIED FOR ENVIRONMENTAL ANALYSIS, DIOXIN2009 - the 29th International Symposium on

Halogenated Organic Pollutants and Persistent Organic Pollutants (POPs)2009年9 月2-7日	Environmental	なし
		2. 実用新案登録
		なし
G. 知的財産の出願・登録状況(予定を 含む)		3. その他
		なし
1. 特許の取得		

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）  
分担研究報告書

食事中試料の汚染化学物質の分析手法の検討

研究分担者 高菅 卓三 愛媛大学沿岸環境科学研究センター  
兼 島津テクノリサーチ

研究要旨

食事中試料について、様々な化学物質の分析手法について検討した。測定対象候補物質としては、POPs、新規POPs、POPs候補物質について、高感度高選択性の機器による測定方法の開発と、未知汚染化学物質の微量検索同定技術について検討した。POPsについて既存の確立された前処理技術と、高分解能型ガスクロマトグラフー質量分析計（GC-HRMS）を用いた分析技術で、より高感度で効率よく測定が可能となった。新規POPsについてはGC-HRMSの他に、液体クロマトグラフー質量分析計（LC-MS/MS）を用いて、対象とする化学物質の測定が可能となった。未知汚染化学物質の微量検索同定技術に用いた装置は、時間飛行型質量分析計（TOFMS）を検出器とするGC-TOFMSである。GC-TOFMSは、全イオンが検出器に到達するため高感度で且つ高速マススペクトル測定が可能である。高分解能のHR-TOFMSではGC-HRMSより簡便にこれらの測定が可能で、データから元素組成を容易に推定が可能な利点がある。筆者らは環境分析分野で数多くの塩素化芳香族炭化水素、さらに、環境試料中の有機ハロゲン化合物などの検索同定や半定量を行い、GC-HRTOFMSの高感度・高精度でのスクリーニング分析の有用性について報告する。

A. 研究目的

食事中試料中の環境汚染物質の分析手法について、高感度高選択性の機器による測定方法の開発と、未知汚染化学物質の微量検索同定技術について最新機器を用いて検討した。

B. 研究方法

POPs、新規POPs、POPs候補物質を中心に既存の確立された前処理技術と、高分解能型ガスクロマトグラフー質量分析計（GC-HRMS）を用いた分析技術で、より高感度で効率化を目指した。新規POPsについてはGC-HRMSの他に、液体クロマトグラ

フー質量分析計（LC-MS/MS）を用いて、最適化を図った。

C. 研究結果

POPs、新規POPs、POPs候補物質について前処理技術と、GC-HRMSを用いた分析技術で、より高感度で効率よく有機ハロゲン化合物の測定が可能となった。新規POPsについてはGC-HRMSとLC-MS/MSを用いて、対象とする化学物質の測定が可能となった。分析結果の詳細は、II-4を参照のこと。

D. 考察

高選択性・高感度の分析技術を用いる事により、従来ではわからなかった極微量の領域の食品汚染の実態把握が可能となった。

#### E. 結論

POPs、新規POPs、POPs候補物質について、前処理技術とGC-HRMS及びLC-MS/MSを用いた分析技術による手法の確立を行った。また、GC-TOFMSを用いた未知微量有機ハロゲン化合物の検索により高感度・高精度でのスクリーニング分析の有用性について評価した。

F. 健康危険情報  
なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

橋本俊次、本田 守、高菅卓三、生方正章、田中一夫、田邊 潔、柴田康行 (2010) : 多次元ガスクロマトグラフー飛行時間型質量分析計による水酸化PCBの測定に関する検討, 環境化学, 20(2), 161-172.

##### 2. 学会発表・その他

Takasuga, T., Matsukami, H., Takemori, H., (2010) : Comprehensive screening and identification of trace organohalogen compounds in environmental matrices using GC-HRTOFMS. The 2nd Korea-Japan Symposium on Environmental Chemistry, Seoul, Korea, November, Abstracts, 142-146. Japan secession III-1. Matsukami, H., Nouda, C., Takasuga, T., (2010): Analysis of Short Chain Chlorinated Paraffins in Ambient air from Japan. The 2nd

Korea-Japan Symposium on Environmental Chemistry, Seoul, Korea, November, Abstracts, 222. Poster session JP-8

高菅卓三・松神秀徳・嶽盛公昭(2010): GC-HRTOFMSによる環境試料中の微量有機ハロゲン化合物の高感度・高精度検出と同定, 第19回環境化学討論会, 春日井市, 6月, 講演要旨集, 394-395.

苗田千尋・松神秀徳・高菅卓三 (2010): 環境試料中エンドスルファンのGC-HRMS (NCI) による分析, 第19回環境化学討論会, 春日井市, 6月, 講演要旨集, 216-217.

松神秀徳・苗田千尋・大井悦雅・高菅卓三 (2010): 大気中の短鎖塩素化パラフィンのGC-HRMS (NCI) 法を用いた分析, 第19回環境化学討論会, 春日井市, 6月, 講演要旨集, 218-219.

松神秀徳・苗田千尋・大井悦雅・高菅卓三 (2010) : 環境試料中の短鎖塩素化パラフィンの分析, 第13回日本水環境学会シンポジウム, 京都市, 9月, 講演要旨集, 233-234.

高菅卓三・松神秀則・嶽盛公昭 (2010) : GC-HRTOFMSによる環境中微量有機ハロゲン化合物の包括的スクリーニングと同定, 第13回日本水環境学会シンポジウム, 京都市, 9月, 講演要旨集, 12-13.

#### 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

I. 文献  
なし



厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）  
分担研究報告書

日中韓越の食事試料中のPFCs分析法の確立

研究代表者 小泉 昭夫 京都大学医学研究科  
研究分担者 原田 浩二 京都大学医学研究科  
研究協力者 藤井 由希子 京都大学医学研究科

研究要旨

近年、PFOA(C8)以外の炭素鎖長の異なるペルフルオロアルキルカルボン酸(PFCAs: C6~7、C9~14)の血清中での増加が見られている。食事中PFCAsが主な曝露経路とされている報告もあり、魚介類など個別食材レベルでの分析例は数少ないが報告されている。しかしながら1日の全量の食事のホモジナイズ処理を行った陰膳試料でのPFCAs類の直接分析の例は、抽出率、検出限界の壁に阻まれ、PFOA以外にまだない。本研究では、食事中PFCAs(C8-C14)類のプロファイルを明らかにすることを目的とし、□従来のより高感度の分析法の確立、□確立した方法を用いて食事中からのPFCsの定量分析を行った。高山の2010年分の食事試料を試行として分析したところ、pg/g.f.w. (wet)オーダーでPFOA(C8):49、PFNA(C9):12、PFDA(C10):15、PFUnDA(C11):2、PFDoDA(C12):6であり、PFOAが全体の58%を占めていた。今回はパイロットスタディとして1サンプルのみであるので、今後サンプルサイズを拡大して調査することが求められる。

A. 研究目的

人工の有機フッ素化合物であるペルフルオロオクタン酸(PFOA)は、工業用乳化剤、フッ素樹脂合成補助剤に使用されてきており、フッ素樹脂などの製品中に微量残存し、また環境中で検出されている。PFOAは、難分解性で、また生物蓄積性を示し、疫学研究は、出生体重の低下が報告されており(Apelberg et al., 2007、Fei et al., 2007)、ヒトの健康影響が懸念されている。近年、PFOA(C8)と構造が類似する炭素鎖長の異なるペルフルオロアルキルカルボン酸(PFCAs: C6~7、C9~14)が日本人を含む東アジアでのヒト血清中で経年的な増加が見られ

ている(食品の安心・安全確保推進研究事業：生体試料バンクを有効活用した食の安全と安心の基盤形成 分担研究報告書「日韓越での血液中難分解性有機フッ素化合物の汚染源の検討」)。

日本以外の地域での報告では、食事中PFCAsが主な曝露経路とされている報告もあり(D'Hollander et al., 2010)、魚介類など個別食材レベルでの分析例は数少ないがマーケットバスケット方式による研究が報告されている(Haug et al., 2010)。しかしながら1日の全量の食事のホモジナイズ処理を行った陰膳試料でのPFCAs類の直接分析の例は、非常に低濃度であることから検出限界の壁に阻まれ、

PFOA 以外まだない(Karrman et al., 2009)。

本研究では、食事中 PFCAs (C8-C14)類のプロファイルおよび曝露量を明らかにすることを目的とし、従来の分析法より高感度の分析法の確立を試みた。

## B. 研究方法

### 1. 試料の抽出・精製方法

調査対象物質は、PFOA (C8)、PFNA (C9)、PFDA (C10)、PFUnDA (C11)、PFDoDA (C12)、PFTrDA (C13)、およびPFTeDA(C14)の7化合物とした。食事試料は2010年度の岐阜県高山市の食事試料を使用した(一日分の全量を大型ミキサーで粉碎・ホモジナイズ処理を行ったもの)。今回はその保存された食事試料からから1gを分注し分析用試料とした。分注後、<sup>13</sup>C 標識のPFOA内部標準、メタノール 1 mL、t-ブチルメチルエーテル (MTBE)2ml、0.5Mテトラブチルアンモニウム溶液 (TBA) 1ml、0.5M炭酸ナトリウム緩衝液2mlを加えた。チューブローターにて24時間回転混和させた後、遠心分離を行い、上清を量りとった。さらにMTBEを2ml追加し、24時間回転、遠心分離、上清を取る操作を2回繰り返した(計3回の抽出)。この溶液を高純度窒素気流で乾固し、0.2mlのメタノールを加え再度溶解させた。Milli-Q™ waterを4ml加え、弱陰イオン交換樹脂カラム OASIS WAX(Waters製)で精製した。この溶液を再度高純度窒素気流で乾固し、0.1 M臭化ベンジルアセトン溶液を添加し、ベンジルエステル誘導体化した。

### 2. 分析方法・検出限界

GC/MS (Agilent 6890GC/ 5973 MSD, Agilent Technologies Japan, Ltd., Tokyo, Japan)を用いて測定した。DB-5MS(全長30m、内径0.25mm、膜厚1μm)のカラムで分離し、Single ion monitoringを使用し、化学イオン化陰イオンモードで分析した。試薬ガスにはメタンを用いた。昇温条件は70℃で2分保持後、100℃まで20℃/min、280℃まで30℃/minで昇温した。Table 1に示すイオンを測定した。

装置の検出限界 (シグナル/ノイズ比=3)は、50 fg(PFDoDA、PFTrDA、PFTeDA)から25 fg(他のPFCAs)の範囲であった。測定方法の検出下限値 (MDL) は 5 pg/mL (PFDoDA、PFTrDA)、2 pg/mL(他のPFCAs)の範囲であった。

## C. 研究結果

今回試行として高山で採取した1日に当たりの食事サンプルを分析した結果、PFCAs (C8~12)が検出された。それぞれの値はpg/g-food weight (wet) (以下、g-f.w.(wet)と記載) オーダーでPFOA(C8):49、PFNA (C9):12、PFDA (C10):15、PFUnDA (C11):2、PFDoDA (C12):6であった(Fig.1.)。一日の摂取量は全量が1,524 gであったことから、ng/dayのオーダーで、PFOA(C8):74.8、PFNA (C9):18.0、PFDA (C10):22.2、PFUnDA (C11):2.8、PFDoDA (C12):9.7、合計で127と推定された。

## D. 考察

### 1. 他の分析方法による一日摂取量との比較

ホモジナイズ処理を行った試料の直接分析は先行研究としてKarrmanら(2009)の報告がある。この結果によると食事からのPFOAの摂取量は

2004年大阪にてMean(Range):  
68.5(22.7-124)ng/day, 同じく2004  
年宮城にてMean(Range):  
48.6(29.0-90.4)ng/dayであった。今回の  
値はPFOA(C8):74.8ng/dayであり、  
大きな差は無かった。

## 2. 血清中の長鎖PFCA類のパターン との比較

血清中のPFCA類の濃度はPFOA  
より長い鎖長のPFCAのレベルは近年  
大幅に日本と韓国で上昇しており、  
長鎖PFCAレベルは、ほとんどの地点  
でPFOA濃度を超えることが明らか  
になっている。一方食事ではPFCA  
類(C8-C14)全体の中でPFOA(C8)は  
58%、PFNA(C9):14%、PFDA  
(C10):17%、PFUnDA(C11):2%、  
PFDoDA(C12):8%であり、PFOAが  
依然として50%以上を占めている。今  
回分析を行ったのは1サンプルのみで  
あるが、今回の知見は、東アジアにお  
ける血清中のC9-C13と、明らかにパ  
ターンが異なっている。従って、  
C8-C14の体内動態が大きく異なる  
こと、あるいは食事以外の曝露源の存  
在を示唆していると考えられ、今後サ  
ンプルサイズを拡大した調査が求め  
られる。

## E. 結論

本研究では、ベンジルエステル誘導  
体化と化学イオン化陰イオンモード  
測定を組み合わせ、高感度にPFCA  
を測定できることを示した。またこの  
分析手法は、食事中PFCAの微量分析  
が可能であることを示すことが出来  
た。高山の2010年に採取された食事試  
料を分析したところ、その結果は  
pg/g-f.w. (wet)オーダーでPFOA(C  
8):49、PFNA(C9):12、PFDA(C10):15、  
PFUnDA(C11):2、PFDoDA(C12):6

であり、PFOAが全体の58%を占めて  
いた。今回は試行として1サンプルの  
みであるので、今後サンプルサイズを  
拡大して調査することが求められる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表・その他

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

## I. 文献

Apelberg, B.J., Witter, F.R.,  
Herbstman, J.B., Calafat, A.M.,  
Halden, R.U., Needham, L.L.,  
Goldman, L.R., 2007. Cord serum  
concentrations of perfluorooctane  
sulfonate (PFOS) and  
perfluorooctanoate (PFOA) in  
relation to weight and size at birth.  
Environ Health Persp 115,  
1670-1676.

Fei, C.Y., McLaughlin, J.K., Tarone,  
R.E., Olsen, J., 2007. Perfluorinated  
chemicals and fetal growth: A study  
within the Danish National Birth  
Cohort. Environ Health Persp 115,  
1677-1682.

D'Hollander W, de Voogt P, De Coen  
W, Bervoets L., 2010. Perfluorinated

substances in human food and other sources of human exposure. *Rev Environ Contam Toxicol* 208, 179-215  
 Haug LS, Salihovic S, Jogsten IE, Thomsen C, van Bavel B, Lindström G, Becher G., 2010. Levels in food and beverages and daily intake of perfluorinated compounds in

Norway. *Chemosphere* 80,1137-43.  
 Kärroman A, Harada KH, Inoue K, Takasuga T, Ohi E, Koizumi A., 2009. Relationship between dietary exposure and serum perfluorochemical (PFC) levels--a case study. *Environ Int* 35, 712-7.

Table 1 Quantification and confirmation ion for PFCAs

Compound	Quantification
PFOA	413
<sup>13</sup> C <sub>4</sub> PFOA	415
PFNA	463
PFDA	513
PFUDA	563
PFDDA	613
PFT <sub>r</sub> DA	663
PFT <sub>e</sub> DA	713

Fig.1. 食事中のPFCAs濃度 (N=1 2010年高山)

