

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

日中韓の母乳試料中の長鎖有機フッ素化合物(Long chain PFCA)
分析手法の確立

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 京都大学大学院医学研究科
研究協力者 藤井 由希子 京都大学大学院医学研究科

研究要旨

近年ペルフルオロオクタン酸PFOA(C8)以外のペルフルオロアルキルカルボン酸(PFCA類:C9-C13)の血中での増加が認められている。しかしながら母乳中の値についての研究は少なく、特に日本人母乳についての研究は限られている。本研究では母乳中のPFCA類(C8-C13)の分析法の確立、確立された方法を用いてを日中韓で比較し、その特徴を明らかにする2点を目的とした。GC/MSによる定量下限を下げるため、ベンジルエステル誘導体を行った。分析の結果、値(中央値(最小値・最大値))はpg/mLレベルであり、日本でC8:88(<50-193), C9:30(<20-72), C10:<20(<20-64), C11:32(<10-98), C12:<10(<10-28), C13:<10(<10-91)であった。中国ではC8:51(<50-121), C9:<20(<20-47), C10:<20(<20-29), C11:12(<10-46), C12:<10(<10-24), C13:<10(<10-43)、韓国ではC8:61(<50-172), C9:<20(<20-41), C10:<20(<20), C11:17(<10-49), C12:<10(<10-40), C13:<10(<10-43)であった。長鎖PFCA類では奇数鎖が偶数鎖よりも検出頻度が高かった。Kruskal-Wallis (Steel-Dwass)の検定ではC8,C9,C10,C11で日本が中韓に比べ有意に高く、C13では日本と中国の間のみ有意差が見られた。C8(PFOA)を米国3M社が2002年から製造を中止した後、米国では成人血中C8濃度が25%減少したと報告されたが、東アジアでは血液・母乳中にてC9より長鎖のPFCA類の増加が見られており、新たな汚染源があると推測される。特に日本は韓国、中国に比べC8-C11までが有意に高く、今後も注視する必要がある。

A. 研究目的

有機フッ素化合物は界面活性剤、フッ素樹脂製造の添加剤として用いられてきた。炭素-フッ素間の強固な結合力のため、化学的に安定であるため残留性を示す。このうちペルフルオクタン酸(PFOA)は疫学研究で出生体重の低下が示唆されるなど懸念が示されている(Apelberg et al., 2007; Fei et al., 2007)。近年PFOA(C8)以外のペ

ルフルオロアルキルカルボン酸(PFCA類)が日本人など東アジアでヒト血中がPFOAと同等に検出され、経年的な増加が認められた(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」)。しかしながら母乳中の値についての研究は少な

く、日本人についての研究でもC8、C9のみであり(Nakata et al., 2009)、包括的な分析はなされていない。本研究では母乳中のPFCA類 (C8-C13)を日中韓で比較し、その特徴を明らかにする。

B. 研究方法

母乳試料は京都大学生体試料バンクに保存されている日中韓それぞれ30検体を用いた。詳細は日本(京都:2009年、年齢(標準偏差):27.8(3.3)、すべて初産婦)、中国(北京:2009-2008年、年齢:27.0(1.7)、すべて初産婦)、韓国(ソウル:2010年、年齢:30.9(2.3)、初産婦22、経産婦8)である。

標的物質はPFCA類のC8からC13とし、誘導体化後、電子イオン化モード(Single ion monitoring)で分析を行った。(詳細は下記研究結果の母乳中PFCA類の分析手法の確立参照)

C. 研究結果

1. 母乳中PFCA類の分析手法の確立

今回は母乳試料からから2mlを分注し分析用試料とした。分注後、¹³C標識のPFOA内部標準、メタノール2ml、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。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、混和・遠心分離・上清を取る操作を2回繰り返した(計2回の抽出)。この溶液を高純度窒素気流で乾固し、MTBE2mlとジクロロメタノール2mlを加え再度溶解させた。メタノールで洗浄したシリカゲルカラムカラムにて酢酸エチル15ml・ヘキサンを10ml用いて精製を行った。最後にアセトン12mlにて抽出を行い、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。測定にはGC-MSを使用した。

本研究では分析に使用する有機溶剤中のPFCA類を減らし、低いブランクレベルを保った(C8:20pg/mL, C9-C13:7.1-ND pg/mL)。また回収率が108-84%と高い数値を達成した。上記の成果を先行研究(Ehrenstein et al., 2009. Karrman et al., 2007. :So et al., 2006. : Llorca et al., 2010. : Kim et al., 2010.)と比較しTable1に示す。今回初めてGC-MSでのC13までの母乳中PFCA類分析が可能となった。

2. 日中韓母乳中のPFCA類分析値

分析結果をFig.1.に示す。分析値(中央値(最小値-最大値))はpg/mLレベルであり、日本でC8:88(<50-193), C9:30(<20-72), C10:<20(<20-64), C11:32(<10-98), C12:<10(<10-28), C13:<10(<10-91)であった。北海道で実施された調査では(Nakata et al., 2009)、C8が平均89 pg/mL、C9が平均35 pg/mLであったものと同程度であると考えられた。

中国ではC8:51(<50-121), C9:<20(<20-47), C10:<20(<20-29), C11:12(<10-46), C12:<10(<10-24), C13:<10(<10-43)、韓国ではC8:61(<50-172), C9:<20(<20-41), C10:<20(<20), C11:17(<10-49), C12:<10(<10-40), C13:<10(<10-43)であった。長鎖PFCA類では奇数鎖が偶数鎖よりも検出頻度が高かった。また日中韓では約50%がC8、残りの50%がC9-C13で占められていた(Fig.2.)。

Kruskal-Wallis (Steel Dwass)での検定ではC8,C9,C10,C11で日本が韓国に比べ有意に高く、C13では日本と中

国の間にはのみ有意差が見られた。

D. 考察

先行研究としてアメリカ(von Ehrenstein et al., 2009)、スウェーデン(Karrman et al., 2007)、中国(So et al., 2006)、スペイン(Llorca et al., 2010)および韓国(Kim et al., 2011)で母乳中PFCA類の測定が行われている。このなかでSo et al.の研究(2006)を除き、C9より長い鎖長のPFCA類は9割の試料で検出限界以下の値であった。

So et al.の研究ではそれぞれpg/mlオーダーでPFOA(Min-Max) : 47-210、PFNA: 6.3-62、PFDA: 3.8-15、PFUnDA: 7.6-56であり、今回の中国での結果と近い値を示している。

E. 結論

今回初めてC13までのPFCA類が母乳中にて検出された。C8(PFOA)を米国3M社が2002年から製造を中止した後、米国では成人血中C8濃度が25%減少したと報告されたが(Olsen et al., 2008)、東アジアでは血液・母乳中にC9より長鎖のPFCA類の増加が見られており、その割合もC8に匹敵する。欧米とは異なる組成の汚染源があると推測される。特に日本は韓国、中国に比べC8-C11までが有意に高く、今後も注視する必要がある。

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

藤井由希子、Yan Junxia、原田浩二、Yang Hye-Ran、王培玉、人見敏明、小泉昭夫、日中韓の母乳中の長鎖有機フッ素化合物(Long chain PFCs)分析、第81回日本衛生学会総会(2011年3月24日)

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.

Karrman, A., Ericson, I., van Bavel, B., Darnerud, P.O., Aune, M., Glynn, A., Lignell, S., Lindstrom, G., 2007. Exposure of perfluorinated chemicals through lactation: levels of matched human milk and serum and a temporal trend, 1996-2004, in Sweden. *Environ Health Perspect* 115, 226-230.

Kim, S.K., Lee, K.T., Kang, C.S., Tao,

- L., Kannan, K., Kim, K.R., Kim, C.K., Lee, J.S., Park, P.S., Yoo, Y.W., Ha, J.Y., Shin, Y.S., Lee, J.H., 2011. Distribution of perfluorochemicals between sera and milk from the same mothers and implications for prenatal and postnatal exposures. *Environ Pollut* 159, 169-174.
- Llorca, M., Farre, M., Pico, Y., Teijon, M.L., Alvarez, J.G., Barcelo, D., 2010. Infant exposure of perfluorinated compounds: levels in breast milk and commercial baby food. *Environ Int* 36, 584-592.
- Nakata, A., Saito, K., Iwasaki, Y., Ito, R., Kishi, R., Nakazawa, H., 2009. Determination of Perfluorinated Compounds in Human Milk and Evaluation of Their Transition from Maternal Plasma. *BUNSEKI KAGAKU* 58, 653-659.
- Olsen, G.W., Mair, D.C., Church, T.R., Ellefson, M.E., Reagen, W.K., Boyd, T.M., Herron, R.M., Medhdizadehkashi, Z., Nobiletti, J.B., Rios, J.A., Butenhoff, J.L., Zobel, L.R., 2008. Decline in perfluorooctanesulfonate and other polyfluoroalkyl chemicals in American Red Cross adult blood donors, 2000-2006. *Environ Sci Technol* 42, 4989-4995.
- So, M.K., Yamashita, N., Taniyasu, S., Jiang, Q., Giesy, J.P., Chen, K., Lam, P.K., 2006. Health risks in infants associated with exposure to perfluorinated compounds in human breast milk from Zhoushan, China. *Environ Sci Technol* 40, 2924-2929.
- von Ehrenstein, O.S., Fenton, S.E., Kato, K., Kuklennyik, Z., Calafat, A.M., Hines, E.P., 2009. Polyfluoroalkyl chemicals in the serum and milk of breastfeeding women. *Reprod Toxicol* 27, 239-245.

Table1. 母乳中PFCA類を測定した先行研究と今回のブランクレベル・回収率の比較

	Published	Chemicals	IDL	Blank	Recovery(%)	Method		
USA	2009	C8	-	pg/ml	100	pg/ml -	LC/MS/MS	
		C9	-	pg/ml	100	pg/ml -		
Sweden	2006	C8	10	pg/ml	209	pg/ml	89	LC/MS
		C9	5	pg/ml	-	pg/ml	95	
		C10	8	pg/ml	14	pg/ml	56	
		C11	5	pg/ml	8	pg/ml	47	
		C12	5	pg/ml	-	pg/ml	41	
China	2006	C8	21~27	pg/ml	21~27	pg/ml	88	LC/MS/MS
		C9	1~10	pg/ml	1~2.3	pg/ml	81	
		C10	1.1~2.5	pg/ml	1.1~2.5	pg/ml	85	
		C11	2.2~5.0	pg/ml	1.1~2.8	pg/ml	78	
Spain	2010	C8	15.2	pg/ml	-	pg/ml	75	LC/MS
		C9	11.5	pg/ml	-	pg/ml	76	
		C10	85.3	pg/ml	-	pg/ml	93	
Korea	2010	C8	-	pg/ml	25.7	pg/ml	133	LC/MS/MS
		C9	-	pg/ml	2.9	pg/ml	113	
		C10	-	pg/ml	6.0	pg/ml	149	
		C11	-	pg/ml	8.0	pg/ml	78	
		C12	-	pg/ml	4.3	pg/ml	-	
This Study	-	C8	5	pg/ml	20.5	pg/ml	104	GC/MS
		C9	5	pg/ml	5.2	pg/ml	84	
		C10	5	pg/ml	7.1	pg/ml	108	
		C11	10	pg/ml	1.8	pg/ml	95	
		C12	10	pg/ml	1.0	pg/ml	92	
		C13	10	pg/ml	0.0	pg/ml	97	

(出典: USA: Ehrenstein et al., 2009. Sweden: Karrman et al., 2007. China: So et al., 2006. Spain: Llorca et al., 2010. Korea: Kim et al., 2010.)

Fig.1. 日中韓の母乳中PFCA類

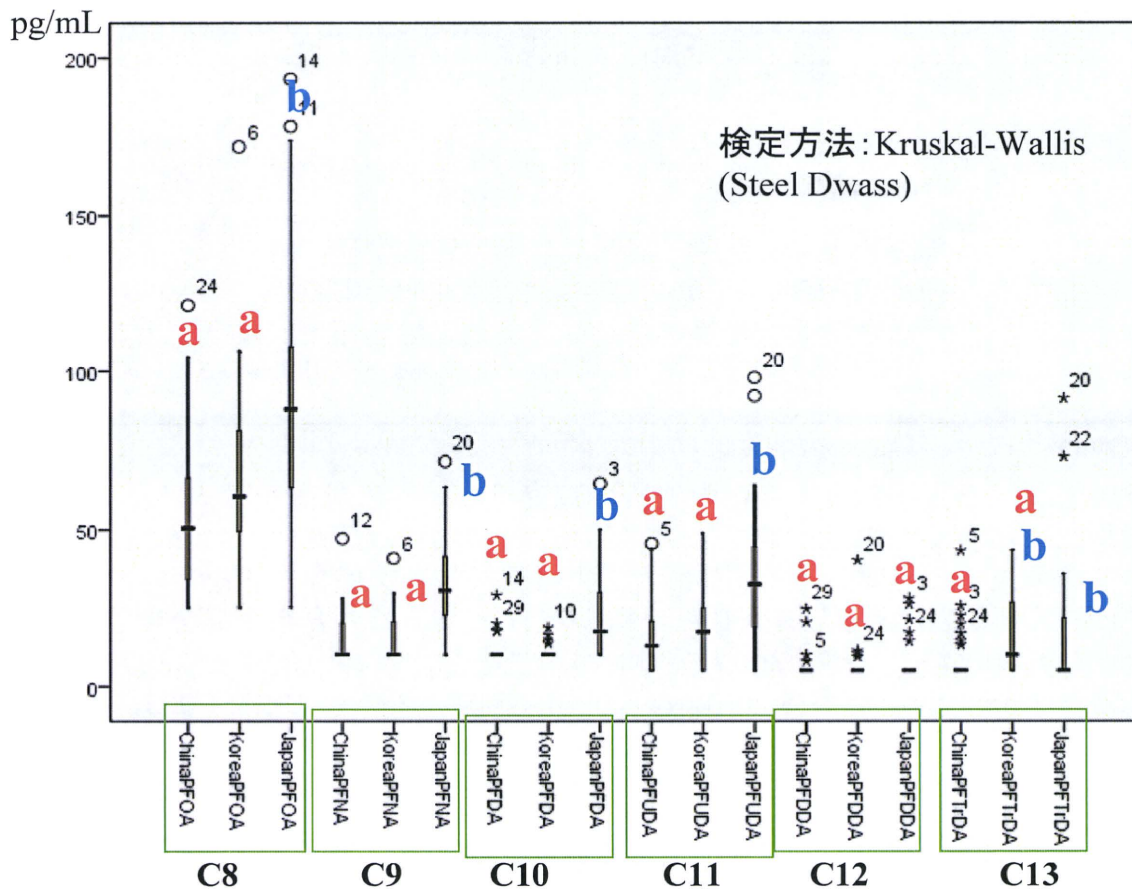
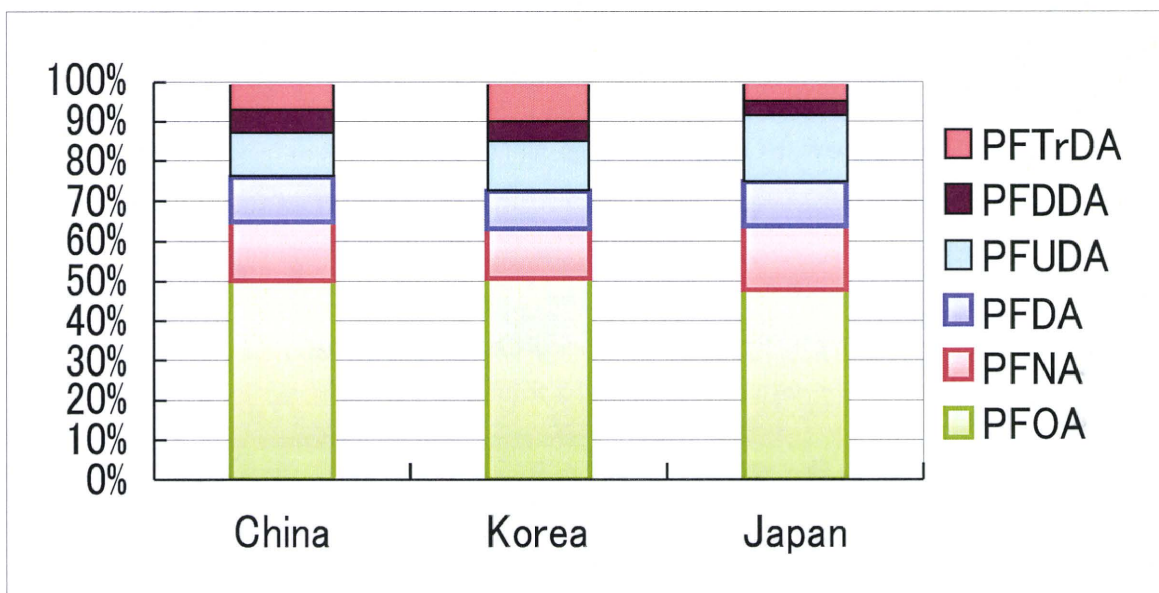


Fig.2. 日中韓の母乳中PFCA類の占有率



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

汚染が懸念される物質のモニタリング—日中韓越の食事試料

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

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。京大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。

POPs は各地域の試料を混合して測定した結果、大部分の有機塩素系農薬は15-30年前に使用禁止となっているが、高感度分析では3カ国で検出可能なレベルで確認された。1993年の北京(中国)試料では、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 POPs レベルは1990年代から2000年代で減少傾向が確認された。ソウルでは一部の POPs で1994年に比べて2007年に上昇傾向がみられた。エンドスルファン(α - and β -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。高レベルの短鎖塩素化パラフィン(SCCP)が2009年の北京の試料で確認された。今後さらに、食事試料について、継続モニタリング調査、リスクアセスメントをnew POPs, POPs 候補物質および残留性毒性有機汚染物質についても推奨される。

A. 研究目的

我が国における食物自給率は極めて低く、食糧の多くを中国や韓国に依存している。しかし、中国では食糧生産の生産単位は小さく、多数の零細業者が担っており、食品衛生当局の監督が行き届いていない状況である。また使用済み食用油の再利用がなされているという中国国内での報道もある (Serchina news “「下水油」の名で

国民関心—中国政府が「生ごみ再生の食用油」厳禁”、2010/03/19)。

昨年度の予備調査で食事中エンドスルファン、短鎖塩素化パラフィンが韓国、中国でそれぞれ高濃度に検出されたため、本年度は食事試料中の POPsおよびPOPs候補物質の調査を、京大大学生体試料バンク保存試料を用いて汚染レベルのタイムトレンドを調査した。特に短鎖塩素化パラフィ

ンについてどの食品群から曝露しているかを評価した。

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)である (表1)。

POPs、新規POPsおよびPOPs候補物質を、抽出クリーンアップ後GC-HRMS法あるいはLC-MS/MSにより調査した。

C. 研究結果

POPs は各地域の試料を混合して測定した結果、大部分の有機塩素系農薬は 15-30 年前に使用禁止となっているが、高感度分析では3カ国で検出可能なレベルで確認された。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)では食事時の POPs 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 POPs で1994年に比べて2007年に上昇傾向がみられた。また、POPs 候補物質のエンドスルファン(α -and β - 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(表2)。高レベルの短鎖塩素化パラフィン(SCCP)が2009年の北京の試料で確認された(表3)。中国では毎日中央値で53マイクログラム摂取している推定となった。この曝露がどの食品群から由来するのかを調査した。日本での過去の調査では油脂類からの摂取が3割とされていた

め、中国各地より食用油、乳製品など比較的脂質含量の多いものを採集した。分析の結果を表4に示す。中国では油脂類に多量の短鎖塩素化パラフィンが検出された。最高値は7.5マイクログラム/グラム油脂であり、日本に輸入されてきたものであった。乳類では、全般的に低かったが、粉ミルクでは高値を示した。これは油脂添加の影響のためと考えられた。揚げ菓子類などではやはり高値を示し、食用油脂に関連することが認められた。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)とすると、北京市では油脂類からの1日短鎖塩素化パラフィン摂取量は30~20マイクログラムであり、陰膳食事試料での推定値の5割程度が食用油由来であり、主要な曝露源であることが分かった。他の地域においても食用油からマイクログラムオーダーで摂取している推定となった。日本で購入された油脂では18ng/gと中国本土に比べわずかであった。我が国の一人一日当たりの油脂類の平均使用量を17g(http://unit.aist.go.jp/riss/crm/exposurefactors/documents/factor/food_intake/intake_oil.pdf)と仮定し計算すると、SCCPの摂取量は一日当たり0.3・gと低い。

D. 考察

食習慣も考慮して、一日あたりの取り込み量の試算などを評価中である。北京でのSCCPsのレベルの上昇については、最近の塩素化パラフィンの生産量の急増(600,000 t/yr)に起因している可能性が高い(Yuan et al. 2009)。

油脂類を中心に試料を入手し、測定

では高濃度の塩素化パラフィンの汚染レベルが確認され、主要な摂取源であることが明らかになった。工業的な生産のみならず、食用油脂の製造過程での汚染、油脂の品質管理が不十分な可能性がある。また日本に輸入されてきた食用油でも高値が示された。食用油の再利用の疑いなどの中国国内での報道もなされており、早急な実態調査が必要である。

E. 結論

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POPs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。POPs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。高レベルの短鎖塩素化パラフィン(SCCP)が2009年の北京の試料で確認された。今後さらに、食事試料について、継続モニタリング調査、リスクアセスメントをnew POPs, POPs 候補物質および残留性毒性有機汚染物質についても推奨される。

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

Takasuga, T., , Nouda C., Matsukami H., Takemori H., Harada K., Fujii Y., Hitomi T., Watanabe T., Yang H-R., Moon C-S., Wang P. and Koizumi A. (2010): POPs in dietary samples from CHINA, KOREA and JAPAN

-Trends of legacy & New POPs compared to POPs candidates. 30th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (DIOXIN 2010), San Antonio, Texas, USA, September, Abstract Book, ID 1399.(ポスター発表)

Takasuga, T., , Nouda C., Matsukami H., Takemori H., Harada K., Fujii Y., Hitomi T., Watanabe T., Yang H-R., Moon C-S., Wang P. and Koizumi A. (2010): POPs in dietary samples from CHINA, KOREA and JAPAN -Trends of legacy & New POPs compared to POPs candidates. The 2nd Korea-Japan Symposium on Environmental Chemistry, Seoul, Korea, November, Abstracts, 44-47. Korea-Japan secession II-1.(口頭発表)

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

Yuan B, Wang Y, Fu J, Jiang G.2009, organohalogen Compounds, 71,3106-3109

Serchina news “「下水油」の名で国民関心—中国政府が「生ごみ再生の食用油」厳禁“、2010/03/19

http://news.searchina.ne.jp/disp.cgi?y=2010&d=0319&f=national_0319_031.shtml

表1 測定試料の概要

Demographic characteristics and average food intakes of the study participants in the 1990s and 2007–2009.

Area	Year	n	Sex		Age (yr)	HSD test ^e	Height (cm)	Weight (kg)	BMI	Food intake		HSD test ^a
			Male	Female						(g/day)	(g/kg/day)	
Beijing	1993	25	0/25		35.5±2.3	A	158.7±2.7	55.0±3.5	21.8±0.9	2249±408	41.0±2.6	AB
	2009	25	0/25		26.5±0.9	B	163.8±2.3	69.8±3.5	26.0±1.9	3054±365	43.8±5.6	A
Seoul	1994	25	0/25		37.8±5.7	A	161.7±0.6	56.3±3.9	21.5±1.6	1777±457	31.7±2.0	C
	2007	25	0/25		35.8±4.0	A	158.5±3.1	53.4±1.7	21.3±0.8	2062±152	38.7±3.1	ABC
Hokkaido	1992, 1995	35	0/35		51.7±4.9	C	150.9±1.6	54.5±2.2	24.0±1.2	2249±274	41.3±5.7	AB
	2009	35 ^b	N.A.		N.A.	-	N.A.	N.A.	N.A.	1901±161	37.3±3.2	ABC
Kyoto	1996, 1997	30	0/30		21.5±0.4	B	158.4±1.3	50.7±4.2	20.2±1.9	1740±335	34.4±6.4	BC
	2009	30 ^b	N.A.		N.A.	-	N.A.	N.A.	N.A.	1575±73	30.9±1.4	C
Okinawa	1992, 1995	35	15/20		49.4±4.4	C	155.1±6.8	61.8±4.7	25.7±1.8	2614±433	42.4±6.5	AB
	2009	35 ^b	N.A.		N.A.	-	N.A.	N.A.	N.A.	1845±137	36.3±2.7	ABC

BMI: body mass index; N.A.: not applicable because of differences in the sampling methods.

Data are presented as the mean ± standard deviation.

^aMeans with different letters differ significantly ($p < 0.05$, Tukey–Kramer HSD test). For example, the letters A and B indicate that the corresponding values differ significantly at $p < 0.05$, while A and AB or AB and B indicate that the corresponding values do not differ

^bFood samples were collected by five volunteers.

表2 食品中エンドスルファンの変遷

	Year (No of pooled diets)		pg/g-f.w.		ng/day	ng/kg/day	Intake/TDI
			α -isomer	β -isomer	Total	Total	
Beijing	1993 (n=5)	Range (>MDL)	N.D.-24.2(3)	N.D.-34.1(3)	5.5-131.1	0.09-2.31	0.02-0.4
		Mean \pm SD	12.5 \pm 10.4	16.1 \pm 14.8	64.1 \pm 56.3	1.20 \pm 1.03	0.2 \pm 0.2
		GM (GSD)	7.0(4.1)	6.8(6.1)	31.6(5.0)	0.58(5.2)	A 0.1(5.2)
		P95 estimate	70.9	133.2	438.5	8.57	1.4
	2009 (n=5)	Range (>MDL)	180.5-269.3(5)	288.4-475.3(5)	1459.5-2241.7	19.20-33.02	3.2-5.5
		Mean \pm SD	218.4 \pm 41.2	365.5 \pm 92.5	1755.6 \pm 296.3	25.30 \pm 5.02	4.2 \pm 0.8
		GM (GSD)	215.4(1.2)	356.5(1.3)	1737.0(1.2)	24.91(1.2)	B 4.2(1.2)
		P95 estimate	292.0	534.4	2259.2	34.31	5.7
Seoul	1994 (n=5)	Range (>MDL)	372.2-544.2(5)	427.5-1149.1(5)	1421.1-2999.4	25.60-54.48	4.3-9.1
		Mean \pm SD	461.6 \pm 76.8	811.4 \pm 316.8	2262.3 \pm 696.4	39.98 \pm 11.21	6.7 \pm 1.9
		GM (GSD)	456.5(1.2)	759.3(1.5)	2174.4(1.4)	38.68(1.3)	B 6.4(1.3)
		P95 estimate	600.2	1504.1	3664.3	62.38	10.4
	2007 (n=5)	Range (>MDL)	169.8-7979.5(5)	170.7-9304.2(5)	769.9-36736.5	13.90-714.72	2.3-119.1
		Mean \pm SD	2405.5 \pm 3197.8	2817.2 \pm 3744.8	10774.6 \pm 14828.7	206.52 \pm 289.49	34.4 \pm 48.2
		GM (GSD)	1123.9(4.3)	1261.9(4.6)	4916.1(4.3)	92.17(4.4)	B 15.4(4.4)
		P95 estimate	12418.7	15492.4	54285.6	1049.97	174.7
Hokkaido	1992, 1995 (n=7)	Range (>MDL)	N.D.-77.2(6)	N.D.-156.3(6)	5.4-446.1	0.10-7.69	0.01-1.3
		Mean \pm SD	23.8 \pm 25.1	36.4 \pm 53.7	127.9 \pm 148.5	2.29 \pm 2.56	0.4 \pm 0.4
		GM (GSD)	14.6(3.3)	16.5(4.5)	70.3(3.8)	1.29(3.8)	A 0.2(3.8)
		P95 estimate	103.8	197.2	641.0	11.42	1.9
	2009 (n=7)	Range (>MDL)	12.1-31.2(7)	12.5-29.1(7)	47.9-98.1	0.94-1.93	0.2-0.3
		Mean \pm SD	19.0 \pm 6.4	20.2 \pm 6.1	75.4 \pm 22.4	1.48 \pm 0.44	0.2 \pm 0.1
		GM (GSD)	18.2(1.4)	19.5(1.4)	72.3(1.4)	1.42(1.4)	A 0.2(1.4)
		P95 estimate	30.3	32.0	121.5	2.39	0.4
Kyoto	1996, 1997 (n=6)	Range (>MDL)	N.D.-44.0(4)	9.7-29.7(5)	17.8-149.8	0.36-2.94	0.1-0.5
		Mean \pm SD	18.9 \pm 15.0	17.5 \pm 8.1	65.3 \pm 46.9	1.29 \pm 0.92	0.2 \pm 0.2
		GM (GSD)	12.6(3.2)	15.9(1.6)	52.7(2.1)	1.04(2.1)	A 0.2(2.1)
		P95 estimate	86.2	34.4	174.7	3.43	0.6
	2009 (n=6)	Range (>MDL)	N.D.-38.9(4)	7.6-26.9(5)	14.1-97.3	0.28-1.91	0.05-0.3
		Mean \pm SD	15.6 \pm 12.6	16.6 \pm 6.6	50.2 \pm 27.0	0.99 \pm 0.53	0.2 \pm 0.1
		GM (GSD)	11.0(2.9)	15.4(1.5)	43.5(1.9)	0.86(1.9)	A 0.1(1.9)
		P95 estimate	64.3	31.2	122.3	2.40	0.4
Okinawa	1992, 1995 (n=7)	Range (>MDL)	N.D.-49.8(5)	7.8-50.5(7)	20.4-293.1	0.33-4.41	0.1-0.7
		Mean \pm SD	16.1 \pm 16.3	21.0 \pm 14.9	104.5 \pm 95.6	1.65 \pm 1.42	0.3 \pm 0.2
		GM (GSD)	9.1(3.7)	17.4(1.9)	71.9(2.7)	1.17(2.6)	A 0.2(2.6)
		P95 estimate	79.1	50.7	355.8	5.58	0.9
	2009 (n=7)	Range (>MDL)	N.D.-26.9(6)	9.2-21.2(7)	19.9-81.5	0.39-1.60	0.1-0.3
		Mean \pm SD	13.4 \pm 7.4	15.1 \pm 4.2	52.2 \pm 18.6	1.03 \pm 0.37	0.2 \pm 0.1
		GM (GSD)	10.6(2.5)	14.6(1.3)	48.7(1.6)	0.96(1.6)	A 0.2(1.6)
		P95 estimate	47.1	23.4	100.0	1.96	0.3

N.D.: not detected; MDL: method detection limit; SD: standard deviation; GM: geometric mean; GSD: geometric standard deviation. P95 estimates were calculated by multiplying the GM by the GSD to the power of 1.64.

^aGMs with different letters differ significantly ($p < 0.05$, Tukey-Kramer HSD test). For example, the letters A and B indicate that the corresponding values differ significantly at $p < 0.05$, while A and AB or AB and B indicate that the corresponding values do not differ significantly.

表3 食事中短鎖塩素化パラフィンの経年変化

(日本)

SCCPs congeners	Hokkaido		2009		Kyoto		2009		Okinawa		2009	
	1992/1995	Q2	range (n>MDL)	Q2	1996/1997	range (n>MDL)	range (n>MDL)	range (n>MDL)	1992/1995	Q2	range (n>MDL)	Q2
C ₁₀ H ₁₇ Cl ₅	<400 (0)	-	<400 (0)	-	<400 (0)	<400 (0)	<400 (0)	<400 (0)	<400 (0)	-	<400 (0)	-
C ₁₀ H ₁₆ Cl ₆	<200-290 (1)	-	<200 (0)	-	<200 (0)	<200 (0)	<200 (0)	<200 (0)	<200 (0)	-	<200 (0)	-
C ₁₀ H ₁₅ Cl ₇	<50 (0)	-	<50 (0)	-	<50 (0)	<50 (0)	<50 (0)	<50 (0)	<50 (0)	-	<50 (0)	-
C ₁₀ H ₁₄ Cl ₈	<20 (0)	-	<20 (0)	-	<20 (0)	<20 (0)	<20 (0)	<20 (0)	<20 (0)	-	<20 (0)	-
C ₁₀ H ₁₃ Cl ₉	<10 (0)	-	<10 (0)	-	<10 (0)	<10 (0)	<10 (0)	<10 (0)	<10 (0)	-	<10 (0)	-
total C ₁₀ Cl _x	<400	-	<400	-	<400	<400	<400	<400	<400	-	<400	-
C ₁₁ H ₁₉ Cl ₅	<500 (0)	-	<500 (0)	-	<500 (0)	<500 (0)	<500 (0)	<500 (0)	<500 (0)	-	<500 (0)	-
C ₁₁ H ₁₈ Cl ₆	<300 (0)	-	<300 (0)	-	<300 (0)	<300 (0)	<300 (0)	<300 (0)	<300 (0)	-	<300 (0)	-
C ₁₁ H ₁₇ Cl ₇	<100 (0)	-	<100 (0)	-	<100-110 (1)	<100 (0)	<100 (0)	<100-120 (2)	-	<100-120 (2)	-	
C ₁₁ H ₁₆ Cl ₈	<50 (0)	-	<50 (0)	-	<50-67 (2)	<50 (0)	<50 (0)	<50-79 (1)	-	<50 (0)	-	
C ₁₁ H ₁₅ Cl ₉	<20 (0)	-	<20 (0)	-	<20 (0)	<20 (0)	<20 (0)	<20 (0)	-	<20 (0)	-	
total C ₁₁ Cl _x	<500	-	<500	-	<500	<500	<500	<500	<500	-	<500	-
C ₁₂ H ₂₁ Cl ₅	<600 (0)	-	<600 (0)	-	<600 (0)	<600 (0)	<600 (0)	<600 (0)	-	<600 (0)	-	
C ₁₂ H ₂₀ Cl ₆	<400 (0)	-	<400 (0)	-	<400 (0)	<400 (0)	<400 (0)	<400 (0)	-	<400 (0)	-	
C ₁₂ H ₁₉ Cl ₇	<200 (0)	-	<200-410 (4)	240	<200-410 (2)	<200-380 (3)	<200-350 (2)	-	<200-490 (5)	370		
C ₁₂ H ₁₈ Cl ₈	<100-110 (3)	-	<100-120 (4)	100	<100-130 (2)	<100-120 (3)	<100-130 (6)	120	<100-150 (5)	120		
C ₁₂ H ₁₇ Cl ₉	<50-63 (4)	61	<50-64 (4)	63	<50-64 (3)	<50-65 (3)	<50-63 (4)	62	<50-64 (4)	64		
total C ₁₂ Cl _x	<600	-	<600	-	<600	<600	<600	<600	-	<600	-	
C ₁₃ H ₂₃ Cl ₅	<900 (0)	-	<900 (0)	-	<900 (0)	<900 (0)	<900 (0)	<900 (0)	-	<900 (0)	-	
C ₁₃ H ₂₂ Cl ₆	<700 (0)	-	<700 (0)	-	<700 (0)	<700 (0)	<700 (0)	<700 (0)	-	<700 (0)	-	
C ₁₃ H ₂₁ Cl ₇	<300 (0)	-	<300 (0)	-	<300 (0)	<300 (0)	<300 (0)	<300 (0)	-	<300-300 (1)	-	
C ₁₃ H ₂₀ Cl ₈	<200 (0)	-	<200 (0)	-	<200 (0)	<200 (0)	<200 (0)	<200 (0)	-	<200 (0)	-	
C ₁₃ H ₁₉ Cl ₉	<50 (0)	-	<50 (0)	-	<50 (0)	<50 (0)	<50 (0)	<50 (0)	-	<50 (0)	-	
total C ₁₃ Cl _x	<900	-	<900	-	<900	<900	<900	<900	-	<900	-	
total C ₁₀₋₁₃ Cl _x	<50-173 (4)	61	<200-594 (5)	530	<50-761 (3)	<200-565 (3)	79-535 (7)	302	<200-1148 (5)	600		

SCCPs: short chain chlorinated paraffins; MDL: method detection limit; Q2: median.

(中国·韩国)

SCCPs congeners	Beijing		Q2	Seoul	
	1993 range (<i>n</i> >MDL)	2009 range (<i>n</i> >MDL)		1994 range (<i>n</i> >MDL)	2007 range (<i>n</i> >MDL)
C ₁₀ H ₁₇ Cl ₅	<400 (0)	1000-3800 (5)	3000	<400 (0)	<400 (0)
C ₁₀ H ₁₆ Cl ₆	<200 (0)	670-1800 (5)	1200	<200 (0)	<200 (0)
C ₁₀ H ₁₅ Cl ₇	<50 (0)	180-520 (5)	330	<50 (0)	<50 (0)
C ₁₀ H ₁₄ Cl ₈	<20 (0)	<20-68 (2)	-	<20 (0)	<20 (0)
C ₁₀ H ₁₃ Cl ₉	<10 (0)	<10-24 (1)	-	<10 (0)	<10 (0)
total C ₁₀ Cl _x	<400	1900-6200	4400	<400	<400
C ₁₁ H ₁₉ Cl ₅	<500 (0)	1400-1900 (5)	1600	<500 (0)	<500 (0)
C ₁₁ H ₁₈ Cl ₆	<300 (0)	990-2000 (5)	1700	<300 (0)	<300 (0)
C ₁₁ H ₁₇ Cl ₇	<100 (0)	440-1000 (5)	780	<100 (0)	<100 (0)
C ₁₁ H ₁₆ Cl ₈	<50 (0)	83-240 (5)	140	<50 (0)	<50-56 (1)
C ₁₁ H ₁₅ Cl ₉	<20 (0)	<20 (0)	-	<20 (0)	<20 (0)
total C ₁₁ Cl _x	<500	2900-4800	4400	<500	<500
C ₁₂ H ₂₁ Cl ₅	<600 (0)	<600-1300 (1)	-	<600 (0)	<600 (0)
C ₁₂ H ₂₀ Cl ₆	<400 (0)	<400-1300 (4)	940	<400 (0)	<400 (0)
C ₁₂ H ₁₉ Cl ₇	<200-430 (2)	670-1400 (5)	1100	<200 (0)	<200 (0)
C ₁₂ H ₁₈ Cl ₈	<100-110 (1)	240-630 (5)	420	<100 (0)	<100 (0)
C ₁₂ H ₁₇ Cl ₉	<50-56 (2)	<50-170 (4)	120	<50 (0)	<50 (0)
total C ₁₂ Cl _x	<600	910-3900	2700	<600	<600
C ₁₃ H ₂₃ Cl ₅	<900 (0)	<900-3600 (1)	-	<900 (0)	<900 (0)
C ₁₃ H ₂₂ Cl ₆	<700 (0)	<700-4100 (4)	1400	<700 (0)	<700 (0)
C ₁₃ H ₂₁ Cl ₇	<300 (0)	770-4100 (5)	1200	<300 (0)	<300 (0)
C ₁₃ H ₂₀ Cl ₈	<200 (0)	390-1700 (5)	620	<200 (0)	<200 (0)
C ₁₃ H ₁₉ Cl ₉	<50 (0)	91-340 (5)	120	<50 (0)	<50 (0)
total C ₁₃ Cl _x	<900	1500-14000	3300	<900	<900
total C ₁₀₋₁₃ Cl _x	<200-596 (2)	8543-28339 (5)	15360	-	<50-56 (1)

SCCPs: short chain chlorinated paraffins; MDL: method detection limit; Q2: median.

表4. 中国、日本での食用油、乳類中の短鎖塩素化パラフィン濃度と推定摂取量

Area (Purchased)	Classification	Name	Concentration (ng/g)					Estimated intake (μg/d)			
			全SCCPs	CP-C10	CP-C11	CP-C12	CP-C13				
上海	油脂類	油(液状)	落花生調製油	130.0	14.0	33.0	38.0	42.0	4.3		
			トウモロコシ油	<9	<4	6.6	<6	<9	<0.3		
			なたね油	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3		
			大豆油	240.0	11.0	27.0	21.0	180.0	7.8		
			ひまわり油	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3		
			オリーブ油+落花生油	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3		
北京	油脂類	油(液状)	大豆油(市場・良)	610.0	210.0	250.0	26.0	120.0	19.9		
			大豆油(市場 不良)	1,100.0	270.0	400.0	75.0	360.0	36.0		
			からし菜油	520.0	56.0	170.0	160.0	130.0	17.0		
			ごま油	210.0	23.0	32.0	18.0	140.0	6.9		
			ごま油(ハンドメイド)	630.0	98.0	220.0	170.0	140.0	20.6		
			調和油	66.0	14.0	22.0	11.0	19.0	2.2		
			オリーブ油	18.0	9.3	8.3	<6	<9	0.6		
			バター	スーパーマーケット	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3	
			マーガリン	スーパーマーケット	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3	
			菓子類	油菓子	揚げ麵	70.0	12.0	22.0	17.0	19.0	3.5
					せんべい	44.0	5.8	10.0	9.9	18.0	2.2
					揚げ菓子(ツイスト)	160.0	22.0	53.0	44.0	37.0	8.0
	揚げ菓子(ごま)	130.0			36.0	27.0	15.0	48.0	6.5		
	菓子	11.0			3.4	4.1	1.3	2.3	0.6		
	菓子(饅頭状)	150.0			41.0	41.0	23.0	49.0	7.5		
	乳類	ヨーグルト	ヨーグルト	1.7	1.0	0.7	<0.6	<0.9	0.04		
			ヨーグルトドリンク	プラスチックパック 市場	<0.9	<0.4	<0.5	<0.6	<0.9	<0.03	
		牛乳(フレッシュ)	ピニールパック 市場	19.0	6.5	7.6	3.1	1.4	0.50		
現代 スーパーマーケット (味つき牛乳)三元 スーパーマーケット			4.2	3.7	0.5	<0.6	<0.9	0.11			
牛乳(ロングライフ)		三元 市場	2.0	2.0	<0.5	<0.6	<0.9	0.05			
		三元 市場	27.0	2.0	9.8	5.2	3.9	0.71			
		伊利 市場	19.0	7.9	8.2	1.3	1.4	0.50			
		福成 スーパーマーケット	5.0	3.2	1.8	<0.6	<0.9	0.13			
		蒙牛 スーパーマーケット	2.6	2.6	<0.5	<0.6	<0.9	0.07			
		三元 スーパーマーケット	2.7	2.7	<0.5	<0.6	<0.9	0.07			
粉ミルク		ネスレ スーパーマーケット	<0.9	0.5	<0.5	<0.6	<0.9	<0.03			
		子供牛乳(伊利) スーパーマーケット	12.0	4.3	5.3	0.8	1.3	0.32			
	粉ミルク	190.0	44.0	79.0	46.0	16.0	5.0				
	チーズ	光明 スーパーマーケット	29.0	8.7	11.0	6.2	3.3	0.8			
調味料及び香辛料類	マヨネーズ	伊利 スーパーマーケット	<0.9	<0.4	<0.5	<0.6	<0.9	<0.03			
		マコーミック スーパーマーケット	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3			
		キューピー	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3			

遼寧省	油脂類	油(液状)	ひまわり油	300.0	22.0	53.0	56.0	170.0	9.8	
			コーン油	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3	
			大豆油(遺伝子組み換え)	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3	
			大豆油(非遺伝子組み換え)	180.0	36.0	48.0	30.0	67.0	5.9	
			ひまわり油	800.0	130.0	200.0	180.0	290.0	26.2	
			大豆油(非遺伝子組み換え)	14.0	<4	6.2	7.4	<9	0.5	
			ひまわり油	110.0	23.0	35.0	19.0	31.0	3.6	
			ピーナッツ油	100.0	17.0	34.0	24.0	26.0	3.3	
			乳類	チーズ	5.8	2.6	2.4	0.8	<0.9	0.2
			菓子類	油菓子	80.0	24.0	24.0	14.0	18.0	4.0
香港	油脂類	油(液状)	オリーブ油	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3	
			とうもろこし油	110.0	13.0	34.0	38.0	29.0	3.6	
			とうもろこし油	230.0	19.0	71.0	75.0	60.0	7.5	
			大豆油・落花生油	170.0	66.0	56.0	12.0	31.0	5.6	
			落花生油	210.0	24.0	58.0	53.0	71.0	6.9	
日本 (横浜 中華 街)	油脂類	油(液状)	落花生油	18.0	8.3	10.0	<6	<9	0.6	
			落花生油	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3	
			黒ゴマ油	180.0	85.0	64.0	<6	31.0	5.9	
			ピーナッツオイル	110.0	22.0	38.0	15.0	34.0	3.6	
			ラー油	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3	
			にんにく油	<9	<4	<5	<6	<9	<0.3	
			花ジョウ油	7,500.0	790.0	2,100.0	1,800.0	2,800.0	245.3	
			藤ジョウ油	3,100.0	560.0	760.0	300.0	1,500.0	101.4	
	えごま油	74.0	<4	<5	<6	74.0	2.4			

推定摂取量は植物油の1日消費量32.7g(2002年時点)に基づく(中国居民栄養・健康現状,2004)

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

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

研究分担者 原口 浩一 第一薬科大学
研究協力者 藤井由希子 京都大学大学院医学研究科

研究要旨

ジコホールは世界中で殺ダニ剤など農薬として使用されている化学物質である。ジコホールはDDTと類似した構造と特性（難分解性、生物濃縮等）を持ち、ヒトへの健康影響が懸念されている。東アジアでは中国の母乳に残留するDDT濃度は日本・韓国に比べ高いことが知られている。また中国ではジコホール製品の不純物が環境中のDDT汚染源の一つになっているという報告もある。しかし、ジコホールの広範な使用にもかかわらず、ヒト由来の生体試料からジコホールを検出した報告はなく、ヒトの体内負荷量も明らかでない。本研究ではGC-MS(EI-SIMモード)を用いてジコホールの分析方法を確立し、その手法を用いて、日中韓の母乳中でジコホールが検出されるかどうか、さらにDDT残留濃度からジコホール製品がヒト中のDDT類の主たる汚染源であるかどうか、について検討した。

母乳中ジコホールの平均濃度は日本で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 after log transformation)。さらに中国の総DDT濃度は日本・韓国より10倍以上高かった。この結果は中国ではDDTとともにジコホールの曝露も高いことを示唆している。しかしながら、ジコホールのDDT類に対する濃度比は低く、DDT曝露におけるジコホールの寄与は低いと考えられた。

1、ジコホール

A. 研究目的

ジコホールは世界中で殺ダニ剤など農薬として使用されている化学物質である。ジコホール¹はDDTとよく似た構造(Fig.1)と特性（難分解性、生物濃縮性）を持ち、ヒトへの健康影響が懸念されている。ジコホール製品¹は工業用DDTを塩素化、さらに加水分解して製造される。未反応のDDTはそのままジコホール製品中に不純物と

して残存する(Qiu et al., 2005; Turgut et al., 2009)。日本ではジコホール製品（ケルセン）は1956年から使用されたが、2004年に農薬登録が失効し、2010年に販売禁止農薬とされた。しかしながらジコホール製品は中国で現在でも使用され、綿農地ではDDTの主な汚染源となっている(Yang et al., 2008)。ジコホールはヒトへの急性毒性があり、発がん性も疑われてい

る (Lessenger and Riley, 1991; Settimi et al., 2003)。急性毒性として神経毒性と認知・情動機能に障害が出るとの症例報告がある (Lessenger and Riley, 1991)。また農業従事者の DDT 類とジコホール使用は前立腺癌の危険性を高めるとの疫学研究報告がある (Settimi et al., 2003)。

東アジアでは中国の母乳中 DDT 濃度は日本・韓国に比べ高いことが知られている (Haraguchi et al., 2009; Hui et al., 2008; Kunisue et al., 2004)。一方、中国では大気中 DDT 類の主たる汚染源がジコホール製品の不純物に由来すると報告もある (Qiu et al., 2005; Qiu et al., 2010; Yang et al., 2008)。しかし、ヒト由来の生体試料中のジコホールの検出法はまだ確立されていないため、ヒト体内での残留量も知られていない。

本研究では gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) で EI-SIM モードを用いて母乳中からジコホールの検出法の確立を試みた。GC-MS 分析ではジコホールは GC 内で熱分解され dichlorobenzophenone (DCBP) となる。このイオン検出を用いて、日中韓の母乳中のジコホール濃度を算出し、さらにその DDT 濃度との割合から、ヒトに残留する DDT 濃度にジコホールがどの程度関与しているか検討した。

Fig. 1 Structure of dicofol

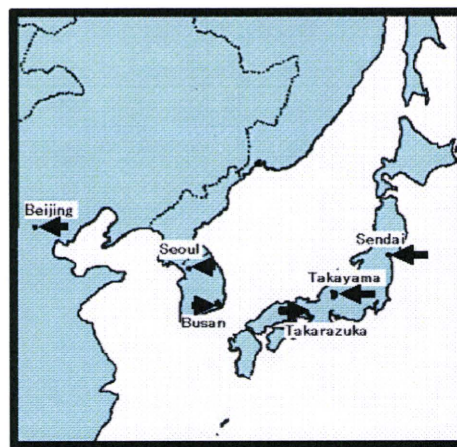
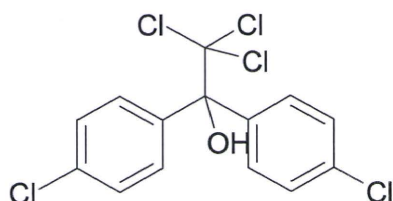


Fig. 2 Map of the sampling locations

B. 研究方法

1. 試料採集

母乳試料は京大生体試料バンク (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、2007 年 12 月 - 2008 年 9 月)、韓国 (30 人、ソウル、2007 年 10 月; 30 人、プサン、2008 年 12 月 - 2009 年 1 月)、日本 (30 人、仙台、2009 年 4 月 - 5 月; 30 人、宝塚、2008 年 8 月; 30 人、高山、2008 年 6 月 - 10 月) のボランティアから採取された (Fig. 2 地域参照)。母乳試料は出産後 4 - 8 週に妊婦本人、もしくは助産婦の介助によって採取された。この研究プロトコル (E25) は京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会により承認され、参加者全てに書面による同意を得た。Table 1 に、参加者の年齢、BMI (body mass index)、職業、出産回数、母乳中の脂質%を示す。中国では一人っ子政策によりすべて初産婦である。

Table 1

Background data for the participants in China, Korea and Japan

Region	Pool number	N	Age ^a	BMI ^b	Occupation			Number of delivery		Lipid (%)
					Housewife	Clerk	Others	Primiparae	Multiparae	
China	Beijing	1	15 25(1.0) ^c	25.2(3.4) ^c	0	6	9	15	0	3.9
	Beijing	2	15 28(1.1) ^c	27.3(4.3) ^c	0	6	9	15	0	4.2
	Beijing	3	15 26(1.1) ^c	26.3(3.2) ^c	0	6	9	15	0	4.3
	Beijing	4	15 28(0.5) ^c	25.6(1.8) ^c	0	8	7	15	0	5.0
	Arithmetic mean (Standard deviation)			27(1.7)	26.0(3.3)				15 (0)	0 (0)
Korea	Seoul	1	15 29(3.2) ^c	19.9(2.1) ^c	8	1	6	11	4	3.3
	Seoul	2	15 34(1.6) ^c	19.8(3.3) ^c	6	2	7	10	5	2.6
	Busan	1	15 30(3.6) ^c	19.8(1.8) ^c	10	2	3	9	6	3.1
	Busan	2	15 32(2.5) ^c	20.7(2.0) ^c	8	5	2	8	7	3.3
	Arithmetic mean (Standard deviation)			31(3.3)	20.0(2.3)				9.5 (1.3)	5.5 (1.3)
Japan	Sendai	1	15 30(2.9) ^c	22.0(2.4) ^c	7	3	5	9	6	3.4
	Sendai	2	15 37(1.7) ^c	22.4(2.3) ^c	9	4	2	8	7	3.5
	Takayama	1	15 27(2.3) ^c	20.7(3.1) ^c	1	3	11	8	7	3.0
	Takayama	2	15 34(3.3) ^c	19.5(1.2) ^c	0	5	10	10	5	3.5
	Takarazuka	1	15 28(4.1) ^c	21.5(3.4) ^c	6	2	7	9	6	2.5
	Takarazuka	2	15 35(2.0) ^c	21.1(3.0) ^c	5	5	5	2	13	3.4
	Arithmetic mean (Standard deviation)			32(4.6)	21.2(2.7)				7.7 (2.9)	7.3 (2.9)

a. Years.

b. BMI: Body mass index.

c. Arithmetic Mean (standard deviation) of each pooled sample.

2. 対象物質

¹³C-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た。分析対象物質は p,p'-dichlorodiphenyldichloroethane (p,p'-DDE), p,p'-dichlorodiphenyldichloroethane (p,p'-DDD), o,p'-dichlorodiphenyltrichloroethane(o,p'-DDT), p,p'-dichlorodiphenyltrichloroethane (p,p'- DDT) およびジコホールである。

3. 分析の前処理

母乳試料15mLに内標準を加え、2% シュウ酸カリウム5mL、ジエチルエーテル:エタノール(1:1)溶液5mLを加えた後、ヘキサン15mLで脂質を抽出した。脂肪分の重量を測定した後、ヘキサン:ジクロロメタン溶液に溶かし、脱脂するために、GPC(gel permeation chromatography、Bio-Beads S-X3)で目的成分を分画した。溶出液を濃縮した後、シリカゲルカラム (0.2g, Wako-gel S1, 和光純薬) に付し、12%ジクロロメタン・ヘキサン溶液 15mLで溶出した液を200uLまで濃縮し、GC-MSで定性、定量した。

Table 2.

GC-MS conditions and selected ions (*m/z*) for determination of the chemicals

Carrier gas	Helium (head pressure of 3 psi)	
Injection mode	Splitless	
Column	HP-5MS (30% dimethylpolysiloxane, 30 m × 0.25 mm i.d. and 0.25 μm film thickness, J&W Scientific, CA, USA)	
Oven	70 °C (1.5 min), then 20 °C/min to 230 °C (0.5 min), and then 4 °C/min to 280 °C (5 min)	
Temperature	Injector (250 °C), transfer line (280 °C), and ion source (230 °C)	
Target ions	235 (237) ^a	<i>o,p'</i> -DDT, <i>o,p'</i> -DDT, <i>p,p'</i> -DDD
-electron ionization mode	318 (316) ^a	<i>p,p'</i> -DDE
	139 (250) ^a	Dichlorobenzophenone (Dicofol pyrolysis product)
	442 (444) ^a	[13C]CB-205 (Internal standard)

a. Confirmation ion.

4. 測定法および精度管理

GC/MS装置はAgilent GC/MSD 5973i, 6890N GCを用いた。測定条件をTable 2に示す。ジコホールの検量線は2-200 ng/mLの範囲で直線性を示した。回収率は91.8±8%, 検出限界は0.1 ng/g lipid (S/N比3)であった。ジコホールの再現性は相対標準偏差<12%, (n=5)で良好であった。DDTの精度管理はcod liver oil SRM 1588b (NIST)を用いて行った。

5. 統計解析

得られたデータはSPSS (Version 16.0 for Windows 2007 (SPSS Inc., IL, USA))で統計解析を行った。自然対数を取った上で、One-way analysis of variance と multiple comparisons (Tukey's HSD test)で対象物質の日中韓での有意差を検定した。対象物質が検出限界 (LOD) 以下の場合、検出限界値の半分を計算値として使用した。(例: ジコホールでは0.05 ng/g lipid)。P値0.05以下を統計的な有意水準とした。

C. 研究結果 および D. 考察

1. ジコホールの単離

ジコホールはGC分析の際、熱分解によりDCBPとなり、これに基づくイオン(*m/z* 139, 250)が検出される。しかし、DCBPが生体中に残留した場合ジコホールと区別できなくなる。今回、母乳中で検出されるジコホールがDCBPでないことを確認するために、GPCによる分画を試みた。従来、脱脂目的で使っているBio Beads S-X3ゲルではジコホールとDCBPの溶出分画は重なることが分かった。他のGPCを検討した結果、Shodex CLNpak EV2000 (昭和電工、溶媒:シクロヘキサン:酢酸エチル(7:3), 流速4 mL/min)を用いるとDDT類・ジコホールの分画とDCBP分画の分離が可能であった。このカラム条件で中国母乳成分の分画を行い、ジコホールの同定の際、DCBPが残存していないことを確認した。Fig. 3aおよびFig. 3bに標準ジコホールおよび中国母乳中のジコホールのクロマトグラムを示す。

2. 定量

Table 3にジコホールとDDT類(*p,p'*-DDE, *p,p'*-DDD, *o,p'*-DDT and *p,p'*-DDT)の母乳中濃度を示す。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。

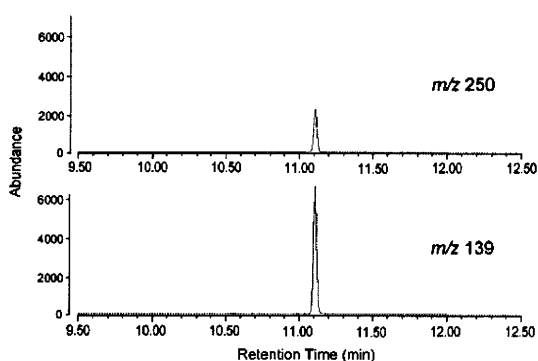


Fig. 3a Chromatogram of dicofol in standard solution

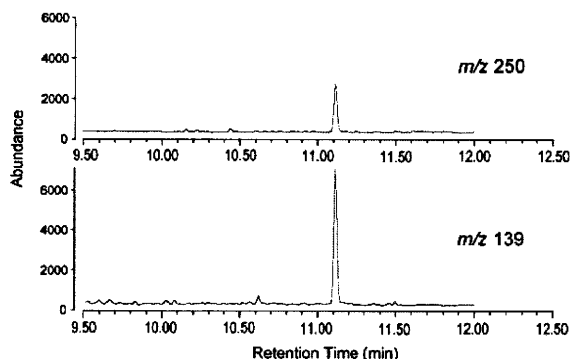


Fig. 3b Chromatogram of dicofol in breast milk from China (Beijing).

3. DDT, ジコホールの特徴

ジコホール製品は農薬として広く使用されていること、以前から母乳中で検出されているDDTと同様の残留性を持つことなどを考えると、本研究でジコホールが母乳から検出されたことは妥当な結果である。ジコホールは中国のサンプルから最も高濃度で検出された。この結果は現在も中国で

ジコホール製品が使用されていることを反映している。しかし、そのジコホール濃度は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。現状では母乳中の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。

中国におけるジコホール製品には5・10%程度のo,p'-DDTとp,p'-DDTが不純物として混入している(Tao et al., 2007)。また、o,p'-DDT/p,p'-DDT比は7付近となることが報告されている(Qiu et al., 2005)。今回の調査では、中国の母乳における(o,p'-DDT/p,p'-DDT)比は0.12で、この割合は日本・韓国と大きな差がなかった(両者とも0.14)。ジコホールの体内での半減期は短いとされており(OSPAR Commission, 2002; Howard, 1991)、ジコホールの残留量のみではそのDDT類への寄与度を推定できない。今回、この低い濃度比(o,p'-DDT/p,p'-DDT)は、ジコホール製品がDDT汚染の主な原因ではないということを支持する。

日本の母乳中のジコホール濃度は、中国・韓国に比べ低かった。日本では2004年にジコホール製品(ケラセン)の製造が中止されており、今回、日本母乳で検出されたジコホールはまだジコホール製品が現在も使用されている中国などから輸入された食品に由来することも考えられる。今後、ジコホールの食品分析および個々の母乳モニタリングが必要と思われる。

4. 乳児の一日摂取量の推定と安全性評価

暫定耐容一日摂取量(provisional tolerable daily intake, PTDI)はDDT