

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Harada KH, Takasuga T, Hitomi T, Wang PY, Matsukami H, Koizumi A. Dietary exposure to short-chain chlorinated paraffins has increased in Beijing, China. *Environ Sci Technol*. Accepted 20 Jul, 45(16):7019-7027, 2011 doi: 10.1021/es200576d

2. 学会発表・その他

原田浩二、高菅卓三、人見敏明、王培玉、小泉昭夫. 日中韓の食事試料中の短鎖塩素化パラフィンとその汚染源の探索. 第51回 近畿産業衛生学会 2011年11月5日 奈良県立文化会館

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

(1) alkanes, C10-13, chloro; European Union Risk Assessment Report 2008, Volume: 81; European Chemicals Bureau; 2008

(2) Nilsen, O. G.; Toftgard, R.; Glaumann, H. Changes in rat liver morphology and metabolic activities after exposure to chlorinated paraffins. *Dev Toxicol Environ Sci* 1980, 8, 525-528.

(3) Cooley, H. M.; Fisk, A. T.; Wiens, S. C.; Tomy, G. T.; Evans, R. E.; Muir, D. C. Examination of the behavior and liver and thyroid histology of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to high dietary concentrations of C(10)-, C(11)-, C(12)- and C(14)-polychlorinated n-alkanes. *Aquat Toxicol* 2001, 54, 81-99.

(4) Study contract on "support related to the international work on Persistent Organic Pollutants (POPs)" management option dossier for Short Chain Chlorinated Paraffins (SCCPs), 12 June 2007"; NV.D.1/SER/2006/0123r; DG Environment; European Commission; 2007.

(5) Nakanishi, J.; Tsunemi, K. Short-chain Chlorinated paraffins; Maruzen Co., Ltd.; Tokyo, Japan, 2005.

(6) Yuan, B.; Wang, Y.; Fu, J.; Jiang, G. Evaluation of the pollution levels of short chain chlorinated paraffins in soil collected from an e-waste dismantling area in China. *Organohalogen Compd*. 2009, 71, 3106-3109.

(7) Yuan, B.; et al. An analytical method for chlorinated paraffins and their determination in soil samples. In *Chinese Science Bulletin*; Science China Press, co-published with Springer, 2010; Vol. 55, pp 2396-2402.

表1. EI/MSにより求められた塩素化パラフィンの異なる塩素化同族体の組成

C <sub>10</sub> Cl <sub>x</sub> congeners	(a) C <sub>10</sub> (44.82% Cl)		(b) C <sub>10</sub> (55.00% Cl)		(c) C <sub>10</sub> (65.02% Cl)		(d) 1:1:1 mixture of a),b),c)	
	Peak area	Composition (%)	Peak area	Composition	Peak area	Composition	Peak area	Composition
C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>3</sub>	50.12	2.15%	69.76	2.58%	-	-	80.16	1.57%
C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>4</sub>	638.17	27.42%	559.84	20.69%	-	-	816.32	16.00%
C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>5</sub>	1104.8	47.48%	1305.11	48.22%	70.28	1.75%	1476.22	28.93%
C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>6</sub>	473.8	20.36%	680.39	25.14%	712.07	17.72%	1217.82	23.86%
C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>7</sub>	60.1	2.58%	91.21	3.37%	1588.36	39.52%	910.4	17.84%
C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>8</sub>	-	-	-	-	1382.02	34.38%	489.7	9.60%
C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>9</sub>	-	-	-	-	266.84	6.64%	112.48	2.20%
total C <sub>10</sub> Cl <sub>x</sub>	2327.0	100%	2706.31	100%	4019.57	100%	5103.1	100%
calculated Cl content		56.04%		56.67%		65.62%		60.03%
C <sub>11</sub> Cl <sub>x</sub> congeners	(a) C <sub>11</sub> (45.50% Cl)		(b) C <sub>11</sub> (55.20% Cl)		(c) C <sub>11</sub> (65.25% Cl)		(d) 1:1:1 mixture of (a), (b), (c)	
	Peak area	Composition (%)	Peak area	Composition	Peak area	Composition	Peak area	Composition
C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>2</sub>	62.43	1.50%	-	-	-	-	-	-
C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>3</sub>	600.14	14.44%	36.82	1.10%	-	-	153.11	4.07%
C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>4</sub>	2017.46	48.55%	529.17	15.78%	-	-	673.86	17.91%
C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>5</sub>	960.1	23.10%	1345.94	40.15%	-	-	861.82	22.91%
C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>6</sub>	431.6	10.38%	1047.99	31.26%	69.08	1.35%	852.87	22.67%
C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>7</sub>	84.0	2.02%	325.34	9.70%	1489.07	29.21%	569.49	15.14%
C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>8</sub>	-	-	67.3	2.01%	2702.25	53.00%	491.25	13.06%
C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>9</sub>	-	-	-	-	725.76	14.24%	131.03	3.48%
C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>10</sub>	-	-	-	-	112.12	2.20%	28.94	0.77%
total C <sub>11</sub> Cl <sub>x</sub>	4155.7	100%	3352.60	100%	5098.28	100%	3762.37	100%
calculated Cl content		50.23%		55.87%		65.27%		57.91%
C <sub>12</sub> Cl <sub>x</sub> congeners	(a) C <sub>12</sub> (45.32% Cl)		(b) C <sub>12</sub> (55.00% Cl)		(c) C <sub>12</sub> (65.08% Cl)		(d) 1:1:1 mixture of (a), (b), (c)	
	Peak area	Composition (%)	Peak area	Composition	Peak area	Composition	Peak area	Composition
C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> Cl <sub>2</sub>	22.32	1.21%	-	-	-	-	-	-
C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> Cl <sub>3</sub>	151.15	8.16%	51.95	1.54%	-	-	59.33	3.31%
C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>4</sub>	635.46	34.31%	503.23	14.88%	-	-	251.1	14.00%
C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>5</sub>	593.1	32.02%	821.63	24.30%	-	-	357.65	19.94%
C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>6</sub>	343.3	18.53%	1066.08	31.53%	35.81	0.80%	399.83	22.29%
C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>7</sub>	106.7	5.76%	770.15	22.78%	571.38	12.83%	334.48	18.65%
C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>8</sub>	-	-	167.8	4.96%	2009.74	45.11%	212.8	11.86%
C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>9</sub>	-	-	-	-	1309.17	29.39%	139.21	7.76%
C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>10</sub>	-	-	-	-	467.7	10.50%	39.28	2.19%
C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>11</sub>	-	-	-	-	61.02	1.37%	-	-
total C <sub>12</sub> Cl <sub>x</sub>	1851.91	100%	3380.88	100%	4454.82	100%	1793.68	100%
calculated Cl content		50.47%		55.29%		65.27%		57.12%
C <sub>13</sub> Cl <sub>x</sub> congeners	(a) C <sub>13</sub> (44.90% Cl)		(b) C <sub>13</sub> (55.03% Cl)		(c) C <sub>13</sub> (65.18% Cl)		(d) 1:1:1 mixture of (a), (b), (c)	
	Peak area	Composition (%)	Peak area	Composition	Peak area	Composition	Peak area	Composition
C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> Cl <sub>2</sub>	49.2	2.55%	-	-	-	-	-	-
C <sub>13</sub> H <sub>25</sub> Cl <sub>3</sub>	138.81	7.21%	13.7	0.51%	-	-	39.93	3.08%
C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> Cl <sub>4</sub>	481.99	25.02%	114.25	4.23%	-	-	121.78	9.40%
C <sub>13</sub> H <sub>23</sub> Cl <sub>5</sub>	735.1	38.16%	735.38	27.24%	-	-	261.7	20.21%
C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>6</sub>	349.9	18.16%	944.53	34.99%	27.96	1.43%	275.14	21.25%
C <sub>13</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>7</sub>	141.0	7.32%	648.12	24.01%	150.25	7.66%	244.86	18.91%
C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>8</sub>	30.41	1.58%	207.4	7.68%	813.7	41.49%	192.98	14.90%
C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>9</sub>	-	-	36.26	1.34%	716.92	36.56%	121.83	9.41%
C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>10</sub>	-	-	-	-	223.81	11.41%	36.75	2.84%
C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>11</sub>	-	-	-	-	28.36	1.45%	-	-
total C <sub>13</sub> Cl <sub>x</sub>	1926.40	100%	2699.67	100%	1961	100%	1294.97	100%
calculated Cl content		49.22%		54.66%		63.25%		56.05%

Concentration of reference solutions was 10 µg/mL. Injection volume was 1 µL.

The congener composition of SCCPs was assumed to be proportional to the peak area percent of the TIC although SCCPs consisted of an enormous number of congeners with different molecular weight, position of chlorine atom, volatility, ionization efficiency and other

表2. ECNI/MSにおける塩素化パラフィン混合標準液を用いた検量線

SCCPs congeners	Range <sup>a</sup> (ng mL <sup>-1</sup> )	Calibration curves (Y=ax+b)			Instrument detection limit <sup>b</sup> (pg μL <sup>-1</sup> )	Reproducibility RSD (%) <sup>c</sup> (n=7)
		Slope (a)	Intercept (b)	Linearity (r)		
C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>5</sub>	29–579	0.00131	-0.000791	0.9999	7.9	5.9
C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>6</sub>	4.8–477	0.00947	-0.0138	0.9996	2.2	12.8
C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>7</sub>	3.6–357	0.0369	-0.0563	0.9997	0.5	4.8
C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>8</sub>	1.9–192	0.0464	-0.0399	0.9997	0.4	6.3
C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>9</sub>	0.44–44	0.0612	-0.0123	0.9994	0.15	9.8
C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>5</sub>	23–458	0.000854	0.00314	0.9996	8.1	8.1
C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>6</sub>	23–453	0.00666	0.00122	0.9999	4.2	4.5
C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>7</sub>	3.0–303	0.0187	-0.0146	0.9998	0.9	8.6
C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>8</sub>	2.6–261	0.0302	-0.0169	0.9996	0.7	7.0
C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>9</sub>	0.7–70	0.0695	-0.0047	0.9998	0.2	6.5
C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>5</sub>	40–399	0.000667	-0.00149	0.9995	11.1	7.0
C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>6</sub>	45–446	0.00548	-0.0081	0.9998	7.8	4.2
C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>7</sub>	9.3–373	0.0187	-0.026	0.9984	2.6	7.5
C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>8</sub>	5.9–237	0.0302	-0.0423	0.9994	1.4	6.9
C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>9</sub>	3.9–155	0.0695	-0.0577	0.9990	0.8	5.6
C <sub>13</sub> H <sub>23</sub> Cl <sub>5</sub>	40–404	0.000425	-0.000714	0.9991	17.6	9.5
C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>6</sub>	42–425	0.00357	0.00332	0.9998	13.9	7.9
C <sub>13</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>7</sub>	9.5–378	0.00767	0.000342	0.9990	3.8	8.7
C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>8</sub>	7.5–298	0.014	-0.0171	0.9995	2.8	9.7
C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>9</sub>	4.7–188	0.0267	-0.0243	0.9997	0.9	5.0

<sup>a</sup> 20, 100, 200, 500, 1000 and 2000 ng/mL of polychlorinated decanes and undecanes; 50, 200, 500, 1000 and 2000 ng/mL of polychlorinated dodecanes and tridecanes

<sup>b</sup> 2-μl injection in ECNI/MS

<sup>c</sup> RSD: relative standard deviation

表3. 化学イオン化における測定限界、回収率、測定間の変動の評価

SCCP congeners	detection limit <sup>a</sup> (pg g <sup>-1</sup> )	non-fortified sample <sup>b</sup> (pg g <sup>-1</sup> )	Fortified amount <sup>c</sup> (pg)	Concentration of fortified sample (pg g <sup>-1</sup> ) (n=7)	Recovery % (RSD%) <sup>d</sup> (n=7)	Fortified amount (pg)	Concentration of fortified sample (pg g <sup>-1</sup> ) (n=5)	Recovery % (RSD%) (n=5)	Intra-day variation <sup>e</sup> RSD% (n=5)	Inter-day variation <sup>f</sup> RSD% (n=5)
C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>5</sub>	400	ND	46000	2200±42	94 (1.9)	23000	1200±87	108 (7.0)	9.4	9.7
C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>6</sub>	200	ND	20000	900±33	90 (3.6)	11000	640±49	117 (7.6)	4.1	7.7
C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>7</sub>	50	ND	3900	180±7.2	93 (4.0)	-	-	-	12.3	13.4
C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>8</sub>	20	ND	620	33±1.7	106 (5.2)	-	-	-	9.9	7.8
C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>9</sub>	10	ND	230	13±1.3	117 (9.8)	-	-	-	8.7	9.4
total C <sub>10</sub> Cl <sub>x</sub>	400	ND	71000	3300±68	92 (2.1)	34000	1800±100	109 (5.5)	7.7	8.1
C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>5</sub>	500	ND	40000	2200±97	111 (4.4)	20000	1100±87	107 (8.1)	11.5	14.1
C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>6</sub>	300	ND	42000	2300±70	107 (3.1)	31000	1500±76	97 (5.0)	2.1	7.5
C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>7</sub>	100	ND	15000	750±33	100 (4.4)	11000	620±63	112 (10.2)	9.0	8.0
C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>8</sub>	50	ND	2700	150±4.2	107 (2.9)	-	-	-	10.8	7.9
C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>9</sub>	20	ND	120	<20	-	-	-	-	-	-
total C <sub>11</sub> Cl <sub>x</sub>	500	ND	100000	5400±160	108 (2.9)	62000	3100±180	99 (6.0)	9.2	10.0
C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>5</sub>	600	ND	69000	3900±170	113 (4.3)	30000	1700±140	116 (8.1)	6.4	9.2
C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>6</sub>	400	ND	78000	4300±140	111 (3.2)	66000	3600±220	109 (6.1)	6.3	6.9
C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>7</sub>	200	ND	44000	2600±56	119 (2.1)	31000	1800±130	113 (7.6)	5.5	8.0
C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>8</sub>	100	80	8900	520±14	99 (3.2)	-	-	-	6.3	9.0
C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>9</sub>	50	71	740	120±5.2	124 (11.3)	-	-	-	7.1	6.5
total C <sub>12</sub> Cl <sub>x</sub>	600	151	200000	11000±210	115 (1.8)	127000	7200±380	114 (5.3)	6.3	7.7
C <sub>13</sub> H <sub>23</sub> Cl <sub>5</sub>	900	ND	63000	4000±220	127 (5.6)	29000	1700±190	116 (11.1)	7.8	9.1
C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>6</sub>	700	ND	69000	3900±180	113 (4.6)	72000	3800±210	106 (5.6)	8.0	8.7
C <sub>13</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>7</sub>	300	ND	46000	2900±86	126 (3.0)	28000	1700±90	119 (5.6)	3.6	5.2
C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>8</sub>	200	ND	17000	1100±38	134 (3.3)	-	-	-	8.7	8.9
C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>9</sub>	50	84	4100	250±9.3	81 (5.6)	-	-	-	9.3	6.3
total C <sub>13</sub> Cl <sub>x</sub>	900	84	200000	12000±240	122 (2.0)	129000	7100±460	111 (6.5)	7.5	8.4

<sup>a</sup> 2-μL injection in ECNI/MS

<sup>b</sup> 20-g food composite sample was extracted and 2 mL aliquot of 20-mL crude extract was analyzed.

<sup>c</sup> 20 g food composite sample was fortified before extraction.

<sup>d</sup> RSD: relative standard deviation

<sup>e</sup> Five replicated samples prepared from a single fortified food composite sample were analyzed.

<sup>f</sup> Five replicated samples prepared from a single fortified food composite sample were analyzed on 5 different days.

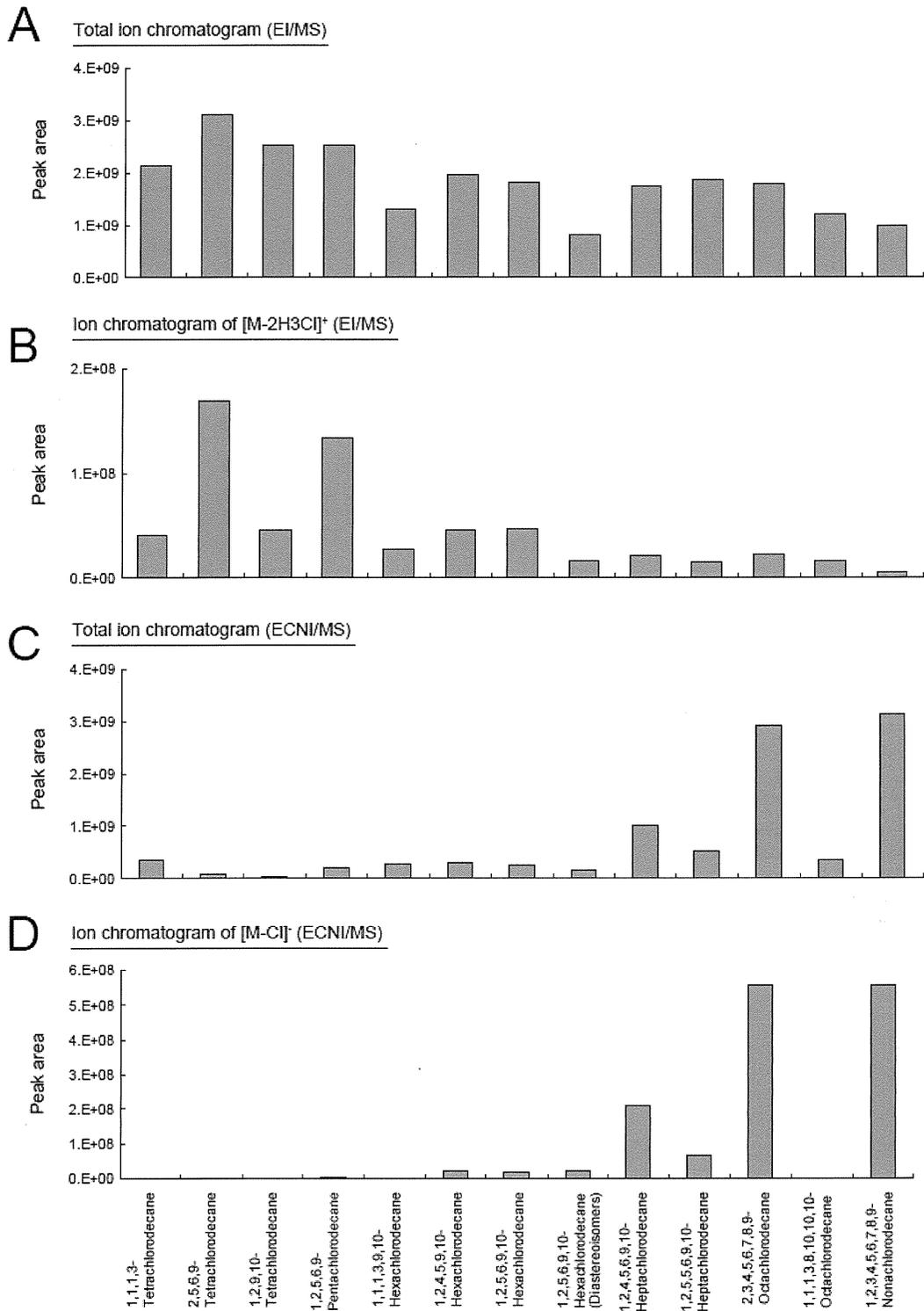


図1. 電子イオン化、化学イオン化における塩素化デカン異性体間の感度の違い

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）  
分担研究報告書

食事試料中のPFCA分析法の確立

主任研究者 小泉 昭夫 京都大学医学研究科環境衛生学分野  
分担研究者 原田 浩二 京都大学大学院医学研究科環境衛生学分野  
研究協力者 藤井 由希子 京都大学大学院医学研究科環境衛生学分野

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: 炭素鎖 9~14)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長鎖 PFCAs 類の直接分析の例は、LC/MS/MS での分析法確立が難しいことから限られている。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、従来より高感度の分析法の開発を行った。

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に増加している (Harada et al., 2011)。

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長鎖 PFCAs 類の直接分析の例は、LC/MS/MS での分析法確立が難しいことから 1 例に限られている ((Karrman et al., 2009, Vestergren et al., 2012)。食事ホモジナイズ試料を用いた pg/g レベルの PFCAs の質量分析はそのマトリックスの複雑さから複雑な clean-up の手順が求められる (Vestergren et al., 2012)。一方 GC/MS はマトリックスの影響を受けにくく (Scott et al., 2006)、electron-capture negative ionization (ECNI) モードでの分析は PFCA anilides の分析感度を向上させるとの報告がある (De Silva et al., 2006)。

本研究の主な目標は、上記のようにPFCAs分析に優れた適性を持つGC/MSを用いて簡便でありながら高感度の食事中PFCAs分析法を開発することである。

## B. 研究方法

### 1, 試料の抽出方法

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を使用した。今回はその保存された食事試料から1gを分注し分析用試料とした。分注後、<sup>13</sup>C標識のPFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA内部標準、t-ブチルメチルエーテル(MTBE)1ml、0.5Mテトラブチルアンモニウム溶液(TBA) 0.3ml、0.5M炭酸ナトリウム緩衝液0.6ml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1ml追加し、24時間回転、遠心分離、上清を取る操作を繰り返した(計2回の抽出)。この溶液を高純度窒素气流で乾固した。誘導体化効率を確認するために1 ng 11H-perfluoroundecanoic acid と1ng <sup>13</sup>C12-labeled CB111 0.1 M を加えた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。分析は誘導体化後24時間以内に行った。

### 2、分析方法・検出限界

GC/MS (Agilent 6890GC/

5973MSD, 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1 $\mu$ m)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イオン源温度は150 $^{\circ}$ Cとした。昇温条件は70 $^{\circ}$ Cで2分保持後、100 $^{\circ}$ Cまで20 $^{\circ}$ C/min、280 $^{\circ}$ Cまで30 $^{\circ}$ C/minで昇温した。Table 1に示すイオンを測定した。PFCAsベンジルエステルの分析感度の確認としてECNIと電子イオン化(EI)の両方のイオン化モードにて検出を行った。EIでは、イオン源の温度は250 $^{\circ}$ Cに設定し、Table 1に示すイオンを測定した。

### 3、検出限界、ブランク値、回収率

装置の検出限界(IDL)はシグナル/ノイズ比=3はにて設定を行った。操作ブランクにはMilli-Q waterを使用し、10サンプルごとに1とした(計6)。ブランク値が検出された場合はサンプルの値からブランク値を引いたうえで、ブランク値の2倍の値をMethod detection limit (MDL)として扱った(Table2)。回収率は100pgの各標準物質を抽出前の食事ホモジネートサンプルに添加して確認した。

## C/D. 研究結果・考察

### 誘導体化.

本研究ではベンジルエステル化とGC-ECNI-MSの組み合わせで非常に簡便でありながら高感度の食事中PFCAsの分析手法を開発した。ECNIは一般的にハロゲン化合物に対して感度が高く、ベンジル化したPFCAsとの組み合わせで簡単な抽出法で精製なしでありながら、高感度な分析が

可能である。食事試料から抽出された PFCAs を 1 ng 11H-perfluoroundecanoic acid と 1 ng 13C12-CB-111 共に benzyl bromide/acetone 溶液に融解し、60℃ 60 分 反 応 さ せ 、 11H-perfluoroundecanoic acid と 1 ng 13C12-CB-111 のピークエリアを比較することにより平衡状態に達したことを確認した。またピークエリアは24時間は変化せず、安定であることを確認した (coefficient of variance: 104 ± 5.6%, n=10)。

#### EI と ECNI モードにおける PFCAs ベンジルエステルのマススペクトルと検出機器限界値 (IDL)。

PFCAs 標準物質を用い EI と ECNI の full-scan mode で retention time とフラグメントパターンの確認を行った。EI-mode では [M]<sup>+</sup>イオンが m/z 504 にて確認された。一方、ECNI-mode では [M-C7H7]<sup>-</sup>イオンが carboxylate anion (C8F15COO<sup>-</sup>) に対応する形で m/z 413 に確認された (Fig1)。他の PFCAs (C9-C14) にも同様の ECNI モードにて [M-C7H7]<sup>-</sup>イオンが EI モードに比べ非常に高いレスポンスがみられた (Fig2,3)。ECNI 得られた IDL を Table1 に示す。

#### 抽出法。

抽出法は Ion-pair 法にて行った (Ylinen et al., 1985)。凍結乾燥を行わず、食事ホモジナイズ試料から水分を除外し効率よく PFCAs の抽出を行うには適した方法とされる (Vestergren et al., 2012)。ECNI モードではクロマトグラフィに他の交雑物が見られず (Fig4)、Ion-pair 抽出のみでその後の精製は行う必要がないと判断した。

#### ブランク値と Method detection limits (MDL)。

ブランク値が検出された場合はサンプルの値からブランク値を引いたうえで、ブランク値の2倍の値を Method detection limit (MDL) として扱った。その結果、PFCAs において 2 から 10 pg/g-w.w の MDL を得た (table2)。この結果は我々の先行研究よりも 1 もしくは 2 オーダー低い値となる。(MDL: 100 pg g<sup>-1</sup> for PFNA, 500 pg g<sup>-1</sup> for PFDA and PFUnDA; Kärman et al., 2009, Fujii et al., 2011)。

#### 回収率 (リカバリー)。

回収率は 100 pg の各標準物質を抽出前の食事ホモジネートサンプルに添加して確認した。PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA についてそれぞれ 97 ± 16%, 98 ± 19%, 91 ± 17%, 94 ± 18%, 90 ± 18%, 93 ± 16%, 97 ± 17% と高い回収率を達成した。

#### 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 PFCAs を測定できることを示した。またこの分析手法は、食事中 PFCAs の微量分析が少ない試料 (1g-w.w) を用いて簡便な方法で可能であることを示した。なお本方法を用いた実際の食事サンプルの分析は本報告書の「汚染が懸念される物質のモニタリング—食事試料、有機フッ素化合物」にて実施した。

#### 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

De Silva AO, Mabury SA. Isomer distribution of perfluorocarboxylates in human blood: potential correlation to

source. *Environ Sci Technol* 2006;40:2903-9.

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.

Harada, K.H., Hitomi, T., Niisoe, T., Takanaka, 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* 37, 1183-1189.

Scott BF, Moody CA, Spencer C, Small JM, Muir DC, Mabury SA. Analysis for perfluorocarboxylic acids/anions in surface waters and precipitation using GC-MS and analysis of PFOA from large-volume samples. *Environ Sci Technol* 2006;40:6405-10.

Kärrman 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.

Vestergren, R., Ullah, S., Cousins, I.T., Berger, U., 2012. A matrix effect-free method for reliable quantification of perfluoroalkyl carboxylic acids and perfluoroalkane sulfonic acids at low parts per trillion levels in dietary samples. *J Chromatogr A* 1237, 64-71.

Table 1					
Quality assurance for PFCAs analysis in food samples					
Compound	(carbon atoms)	Quantification	Quantification	Instrument detection	Instrument detection
		(confirmation)	(confirmation)	limit <sup>a</sup> (pg)	limit <sup>a</sup> (pg)
		ECNI	EI	ECNI	EI
PFOA	(C8)	413 (414)	504 (485)	0.003	0.2
PFNA	(C9)	463 (464)	554 (535)	0.003	0.2
PFDA	(C10)	513 (514)	604 (585)	0.004	0.2
PDU <sub>n</sub> DA	(C11)	563 (564)	654 (635)	0.004	0.2
PDFDoDA	(C12)	613 (614)	704 (685)	0.005	0.4
PFT <sub>r</sub> DA	(C13)	663 (664)	754 (735)	0.005	0.4
PFDeDA	(C14)	713 (714)	804(785)	0.007	2

<sup>a</sup> 1µl injection

<sup>b</sup> RSD: relative standard deviation

Table 2				
Recovery and method detection limit for PFCAs analysis in food samples				
Compound	(carbon atoms)	Recovery and (reproducibility)	Blank (SD)	Method detection
		% (RSD%) <sup>a</sup> (n=10, fortified)	pg g <sup>-1</sup> , N=6,	limit <sup>b</sup> (pg g <sup>-1</sup> )
PFOA	(C8)	97 (16)	5(0.4)	10
PFNA	(C9)	98 (19)	2(0.3)	4
PFDA	(C10)	91 (17)	1(0.3)	2
PDU <sub>n</sub> DA	(C11)	94 (18)	1.5(0.4)	3
PDFDoDA	(C12)	90 (18)	1(0.2)	2
PFT <sub>r</sub> DA	(C13)	93 (16)	1(0.2)	2
PFDeDA	(C14)	93 (17)	1(0.4)	2

<sup>a</sup> RSD: relative standard deviation

<sup>b</sup> food sample of 1g (the mean blank signal was subtracted from the calculated sample concentration only if the calculated sample concentration was three times higher than the blank concentration).

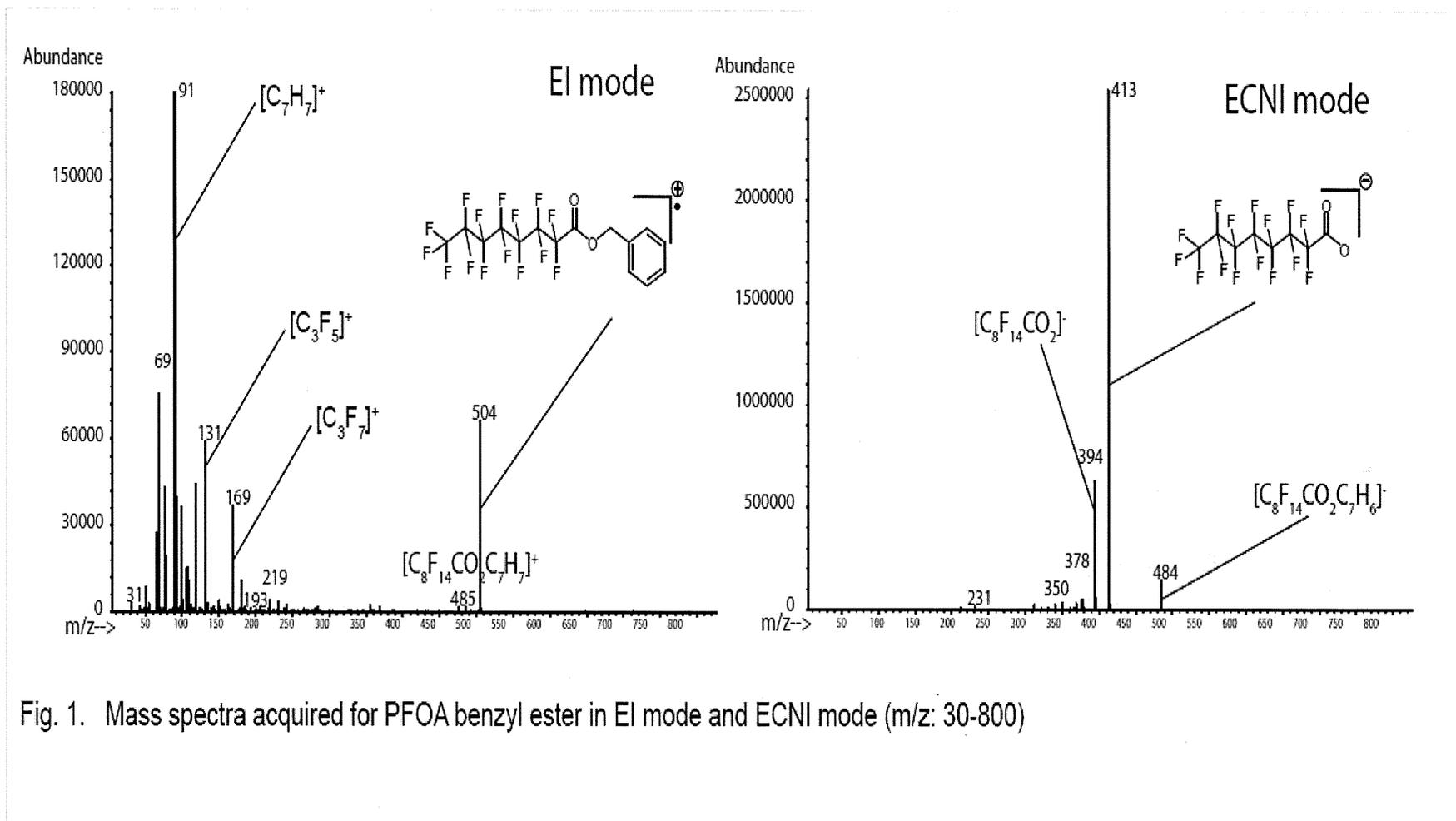


Fig. 1. Mass spectra acquired for PFOA benzyl ester in EI mode and ECNI mode (m/z: 30-800)

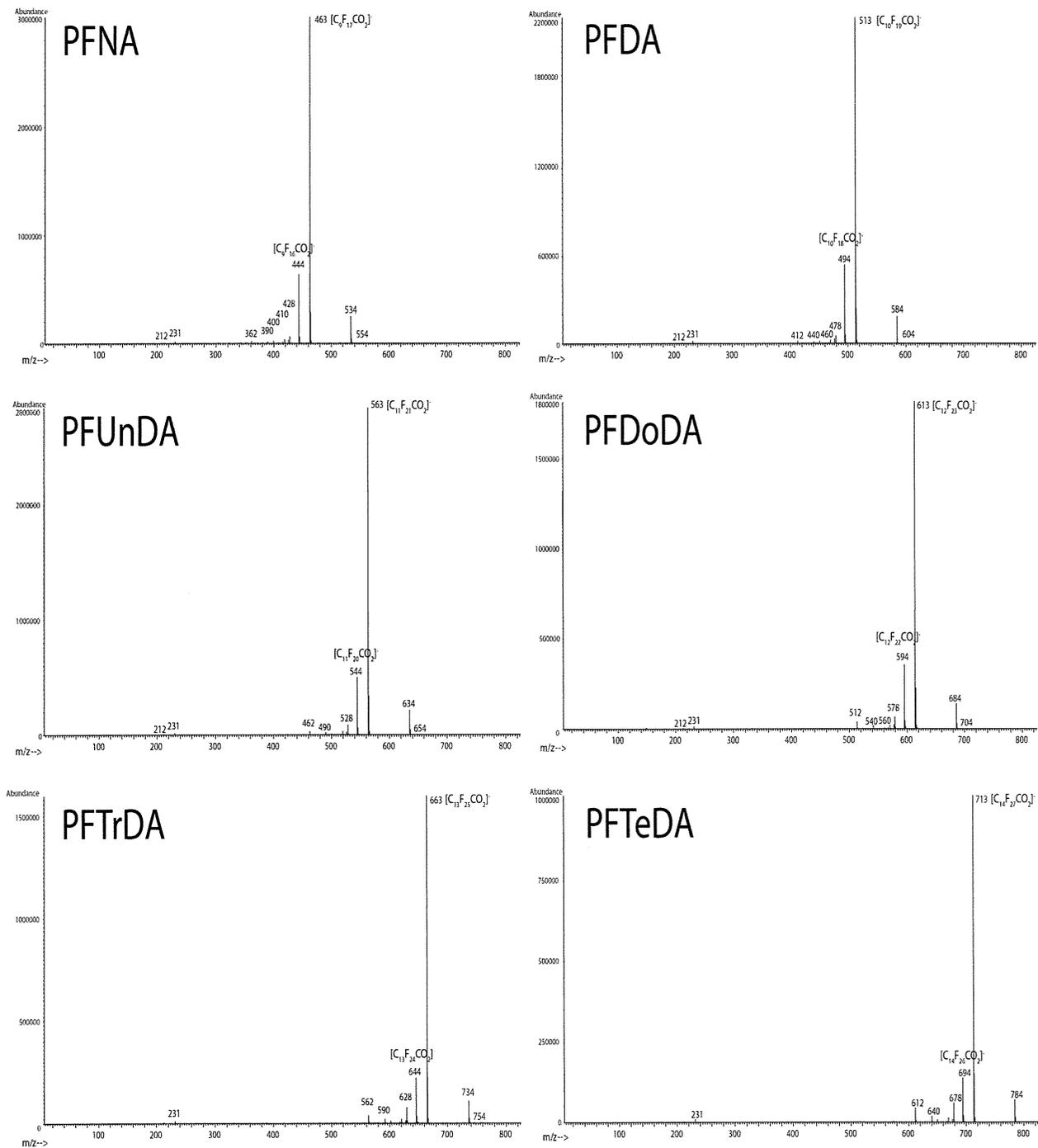


Fig.2. Mass spectra acquired for PFCA benzyl esters in ECNI mode (m/z: 30-800)

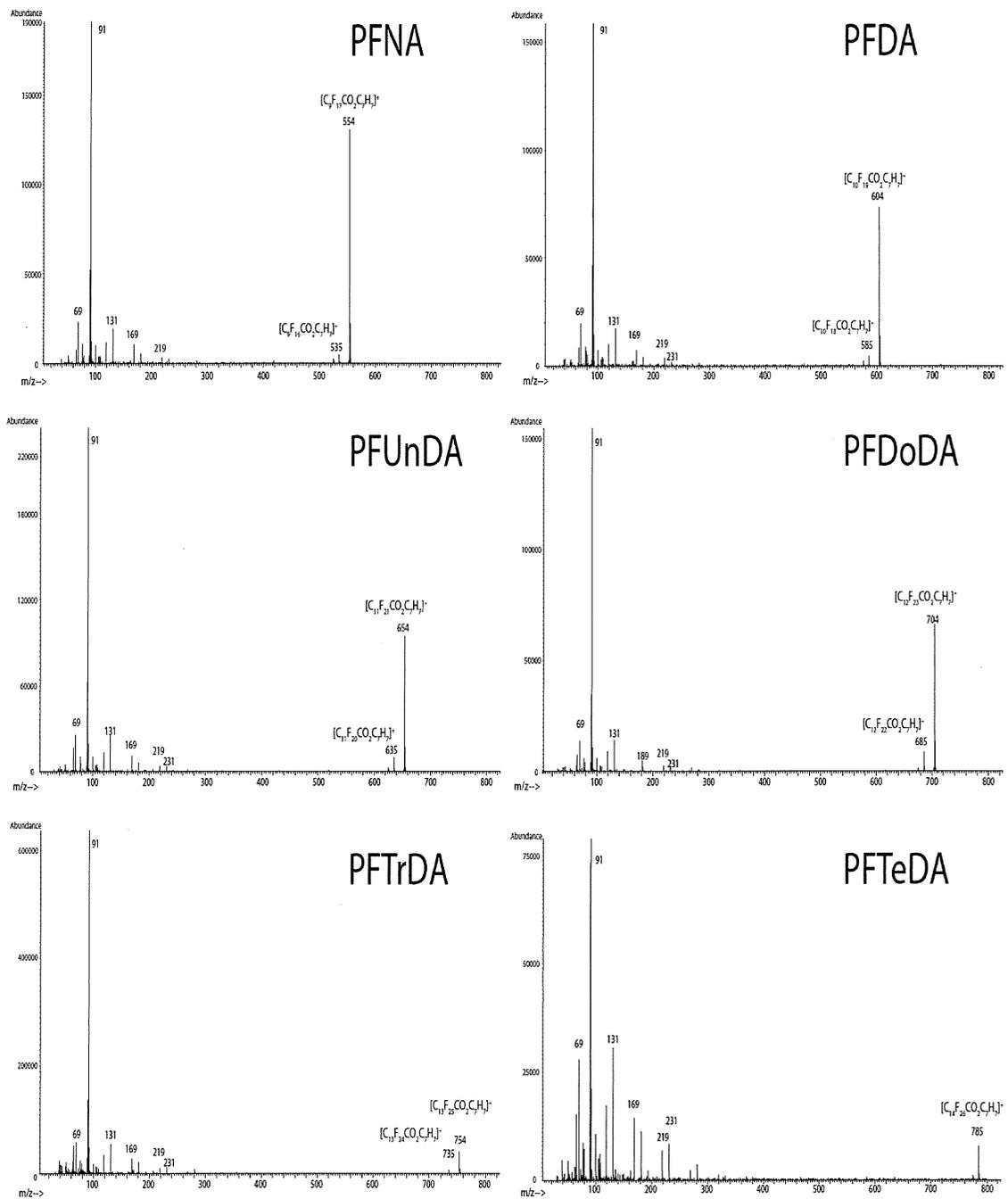
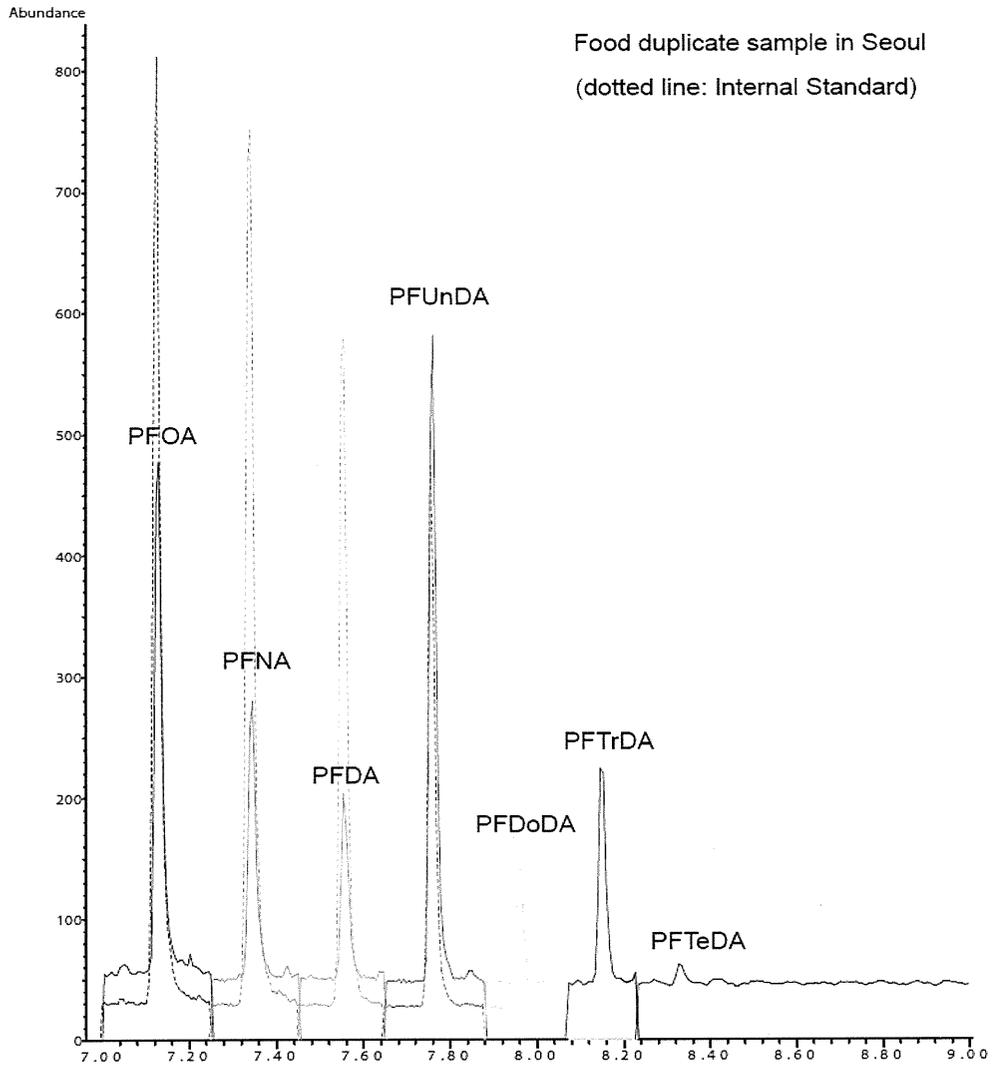


Fig. 3. Mass spectra acquired for PFCA benzyl esters in EI mode (m/z: 30-800)

Fig. 4. Typical chromatograms of PFCAs



厚生労働科学研究費補助金（食品の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—食事試料—  
有機フッ素化合物

主任研究者 小泉 昭夫 京都大学医学研究科環境衛生学分野  
分担研究者 原田 浩二 京都大学医学研究科環境衛生学分野  
(研究協力者 藤井 由希子 京都大学医学研究科環境衛生学分野)

### 研究要旨

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、本報告書の「食事試料中の PFCAs 分析法の確立」にて報告した、従来より高感度の分析法を用いて日本・中国・韓国の 1990 年代、2000 年代の食事試料の分析を行った。

PFCAs 摂取量はソウルで1990年に比べ、2000年代では有意に増加が見られた。さらに特徴的なパターンとして、奇数鎖PFCAsが偶数鎖PFCAsよりも日本・韓国で優位に見られた。この傾向は先行研究の血清中PFCAsのモニタリング値(Harada et al., 2011)と類似しており、食品はPFCAsの主要な摂取経路だと推測される。PFOA(C8)よりも長鎖のPFCAs(C9-C14)の割合は三カ国平均で1990年代から2000年代にかけて68%から82%へと増加しており、東アジアにおける長鎖PFCAsの暴露が増加していることが示唆される。

### 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)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(Harada et al., 2011)。

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 PFOA(C8)より長鎖の PFCAs 類の分析の例は、分析手法確立の難しさから東アジアではまだない。 ((Karrman et al., 2009,)

本研究では前項「食事試料中の PFCAs 分析法の確立」にて報告した、従来より高感度の分析法を用いて日本・中国・韓国の 1990 年代、2000 年代の食事試料を分析しそのプロファ

イルを明らかにした。

## B. 研究方法

### 1. 分析方法

詳細な分析方法については本報告の「食事試料中のPFCA分析法の確立」にて報告を行っている。簡単には以下に記述する。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を使用した。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、PFNA、PFDA、PFUnDA、PFDoDA内部標準、t-ブチルメチルエーテル(MTBE)1ml、0.5Mテトラブチルアンモニウム溶液(TBA) 0.3ml、0.5M炭酸ナトリウム緩衝液0.6ml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1ml追加し、24時間回転、遠心分離、上清を取る操作を繰り返した(計2回の抽出)。この溶液を高純度窒素気流で乾固し、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。

GC/MS (Agilent 6890GC/5973MSD, 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1 $\mu$ m)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イオン源温度は150 $^{\circ}$ Cとした。昇温条件は70 $^{\circ}$ C

で2分保持後、100 $^{\circ}$ Cまで20 $^{\circ}$ C/min、280 $^{\circ}$ Cまで30 $^{\circ}$ C/minで昇温した。

### 2. サンプル集団

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(Table1, Fig1)。

## C. 研究結果

PFCAの一日摂取量(ng/day)はTable2に示す(g/g-food weightでの値はTable3に示す)。下記に三カ国の特徴を記す。

日本：日本ではPFOA(C8)を含むPFCAは1990年代、2000年代双方で検出された。特徴的な傾向として奇数鎖PFCA(PFUnDA (C11) PFTrDA (C13))が偶数鎖PFCA(PFDA (C10)、PFDoDA (C12)、PFTeDA (C14))に比べ多く含まれる傾向が見られた。

韓国：韓国では1990年代に比べ、2000年代のサンプルでは長鎖PFCA(C9-C14)は優位に増加していた(p<0.05, Student's t-test)。韓国でも日本と同様に奇数鎖PFCA(PFUnDA (C11) PFTrDA (C13))が偶数鎖PFCA(PFDA (C10)、PFDoDA (C12)、PFTeDA (C14))に比べ多く含まれる傾向が見られた。一方日本とは異なりPFOA(C8)はすべて検出限界以下(<10pg/g-f.w.)であった。

中国：中国では韓国と同じく日本と異なりPFOA(C8)はすべて検出限界以下(<10pg/g-f.w.)であった。PFCAsの中ではPFDA(C10)が最も高く、PFNA(C9)、PFTrDA (C13)と続く形となっている。日本・韓国とは異なり、奇数鎖PFCAsの優位性は中国では見られない。

#### D. 考察

特記すべき事項は、TotalのPFCAs摂取量がソウルで2007年に比べ、有意に増加していることである。さらに特徴的なパターンとして、奇数鎖PFCAsが偶数鎖PFCAsよりも日本・韓国で多く見られた。この傾向は先行研究の血清中PFCAsのモニタリング値(Harada et al., 2011)と類似しており、食品がPFCAsの主要な摂取経路だと推測される。またPFOA(C8)よりも長鎖のPFCAs(C9-C14)の割合は三カ国平均で1990年代から2000年代にかけて68%から82%に増加しており、東アジアの集団長鎖PFCAsの暴露が増加していることが示唆される。

食事中PFCAsの測定報告は血清中PFCAsに比べ非常に少ない。その限られたデータをTable4にまとめる。ノルウェイでPFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDAの摂取量はそれぞれ31, 9.5, 13, 6.7, 6.7 (ng/day)だと魚類等単独食品の測定値より計算されている(Haug et al., 2010)。このようにノルウェイでは日本や韓国とは異なり奇数優位の傾向はみられない。

#### E. 結論

本研究では、確立した測定手法にて実際の食事中PFCAs濃度を測定し、摂取量を計算した。その結果、Total PFCAs 摂取量がソウルで1990年に

比べ、2000年代有意に増加していることが判明した。さらに特徴的なパターンとして、奇数鎖PFCAsが偶数鎖PFCAsよりも日本・韓国で優位に見られた。PFOA(C8)よりも長鎖のPFCAs(C9-C14)の割合は三カ国平均で1990年代から2000年代にかけて68%から82%に増加しており、東アジアでの長鎖PFCAsの暴露が増加していることが示唆される。

#### 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

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

De Silva AO, Mabury SA. Isomer distribution of perfluorocarboxylates in human blood: potential correlation to source. *Environ Sci Technol* 2006;40:2903-9.

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.

Harada, K.H., Hitomi, T., Niisoe, T.,

Takanaka, 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* 37, 1183-1189.

Kärrman 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.** Demographic characteristics and average food intakes of the study participants in the 1990s and 2000s

Country	Area	Sampling year	n	Sex	Age (yr)	HSD test <sup>a</sup>	Height (cm)	Weight (kg)	Food consumption		HSD test <sup>a</sup>	Fat content (%)
				Male/Female					(g day <sup>-1</sup> )	(g kg-bw <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )		
Japan	Hokkaido	1992, 1995	35	0/35	51.7±4.9	A	150.9±1.6	54.5±2.2	2249±274	41.3±5.7	AB	1.8±0.4
		2009	35 <sup>b</sup>	NA	NA	-	NA	50.9 <sup>c</sup>	1901±161	37.3±3.2	ABC	2.8±0.4
	Kyoto	1996, 1997	30	0/30	21.5±0.4	B	158.4±1.3	50.7±4.2	1740±335	34.4±6.4	BC	2.2±0.6
		2009	30 <sup>b</sup>	NA	NA	-	NA	50.9 <sup>c</sup>	1575±73	30.9±1.4	C	2.5±0.6
	Okinawa	1992, 1995	35	15/20	49.4±4.4	A	155.1±6.8	61.8±4.7	2614±433	42.4±6.5	AB	2.2±0.3
		2009	35 <sup>b</sup>	NA	NA	-	NA	50.9 <sup>c</sup>	1845±137	36.3±2.7	ABC	3.6±0.5
Korea	Seoul	1994	25	0/25	37.8±5.7	C	161.7±0.6	56.3±3.9	1777±457	31.7±2.0	C	1.5±0.6
		2007	25	0/25	35.8±4.0	C	158.5±3.1	53.4±1.7	2062±152	38.7±3.1	ABC	2.2±0.3
China	Beijing	1993	25	0/25	35.5±2.3	A	158.7±2.7	55.0±3.5	2249±408	41.0±2.6	AB	3.0±0.3
		2009	25	0/25	26.5±0.9	B	163.8±2.3	69.8±3.5	3054±365	43.8±5.6	A	3.9±0.4

NA: not applicable because of differences in the sampling methods; kg-bw: body weight in kilograms; HSD test: Tukey–Kramer honestly significant Data are presented as the mean ± standard deviation.

<sup>a</sup>Means with different letters differ significantly ( $p < 0.05$ , 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.

<sup>b</sup>Food samples were collected in markets by five volunteers.

<sup>c</sup>Mean body weight of a female aged 26–29 years in 2007 in Japan was assumed (National Health and Nutrition Survey in Japan).

Table 2													
Dietary intake of n-PFCAs from the composite food samples (ng/day)													
		Year (No of pooled diets)	nd/day	n-PFOA (C8)	n-PFNA (C9)	n-PFDA (C10)	n-PFUnDA (C11)	n-PFDoDA (C12)	n-PFTrDA (C13)	n-PFTeDA (C14)	Total (C8-C14)		
China	Beijing	1993	n>MDL (%)	0(0)	3(60)	4(80)	4(80)	4(80)	4(80)	2(40)	4(80)		
			Median (Range)	<22.5	9.4(n.d.-12.3)	8.9(n.d.-15.4)	9.6(n.d.-13.9)	6.5(n.d.-13.3)	15.0(n.d.-16.0)	<4.5	66.6(n.d.-80.2)	A <sup>b</sup>	
			Mean±SD	-	<9.0	9.0±4.9	9.7±4.0	7.3±4.1	12.6±5.8	-	61.7±20.0		
		(n=5)		GM (GSD)	-	<9.0	7.6(2.1)	8.8(1.7)	6.3(1.9)	10.3(2.4)	-	58.1(1.5)	
			2009	n>MDL (%)	0(0)	2(40)	5(100)	2(40)	3(60)	3(60)	2(40)	5(100)	
				Median (Range)	<30.9	<12.4(n.d.-15.8)	13.8(6.9-19.1)	<9.3(n.d.-32.4)	8.7(n.d.-14.9)	8.0(n.d.-29.6)	<6.2(n.d.-19.4)	68.1(35.1-141.8)	A <sup>b</sup>
			Mean±SD	-	9.4±4.9	13.1±4.9	-	8.0±5.3	13.0±12.1	-	78.7±40.8		
			GM (GSD)	-	8.4(1.7)	12.2(1.5)	-	6.4(2.2)	8.4(3.0)	-	70.7(1.7)		
Korea	Seoul	1994	n>MDL (%)	0(0)	0(0)	2(40)	4(80)	2(40)	5(100)	1(20)	5(100)		
			Median (Range)	<17.8	<7.7	<3.6(n.d.-6.8)	** 8.2(n.d.-13.2)	** <3.6(n.d.-5.2)	** 9.3(5.2-22.2)	** <3.6(n.d.-3.7)	** 40.4(28.8-56.4)	** A <sup>b</sup>	
			Mean±SD	-	-	-	8.5±4.4	-	10.5±6.9	-	40.1±11.6		
		(n=5)		GM (GSD)	-	-	-	7.3(1.9)	-	9.0(1.8)	-	38.8(1.3)	
			2007	n>MDL (%)	0(0)	2(40)	5(100)	5(100)	5(100)	5(100)	5(100)	5(100)	
				Median (Range)	<21.0	<8.4(n.d.-16.1)	8.6(6.8-13.4)	** 60.3(46.9-80.2)	** 17.1(12.6-25.3)	** 49.3(41.4-67.8)	** 9.6(5.6-11.4)	** 172.8(132.3-225.2)	** B <sup>b</sup>
			Mean±SD	-	-	9.4±2.8	63.4±12.4	17.4±4.9	54.1±11.1	9.4±2.3	171.6±34.8		
			GM (GSD)	-	-	9.1(1.3)	62.4(1.2)	16.9(1.3)	53.2(1.2)	9.2(1.3)	168.9(1.2)		
Japan	Hokkaido	1992, 1995	n>MDL (%)	3(43)	1(14)	2(29)	7(100)	2(29)	7(100)	0(0)	7(100)		
			Median (Range)	<22.2(n.d.-35.8)	<8.9(n.d.-13.7)	<4.4(n.d.-5.2)	14.5(8.9-25.0)	* a <4.4(n.d.-4.9)	13.1(5.2-29.7)	<4.4	79.3(33.8-88.5)	A <sup>b</sup>	
			Mean±SD	-	-	-	15.3±4.8	-	15.7±9.8	-	64.6±22.4		
		(n=7)		GM (GSD)	-	-	-	14.7(1.4)	-	13.2(1.9)	-	60.8(1.5)	
			2009	n>MDL (%)	2(29)	4(57)	3(43)	7(100)	5(71)	6(86)	3(43)	7(100)	
				Median (Range)	<18.1(n.d.-25.4)	7.8(n.d.-20.3)	<3.6(n.d.-11.3)	20.6(14.7-30.0)	* a 4.9(n.d.-16.1)	14.5(n.d.-40.0)	<3.6(n.d.-9.4)	57.8(50.7-146.8)	B <sup>b</sup>
			Mean±SD	-	8.6±6.1	-	22.3±5.4	6.0±4.8	18.4±12.8	-	76.5±37.2		
			GM (GSD)	-	<7.6	-	21.7(1.3)	4.7(2.0)	13.4(2.7)	-	70.5(1.5)		
	Kyoto	1996, 1997	n>MDL (%)	6(100)	1(17)	1(17)	5(83)	1(17)	5(83)	0(0)	6(100)		
Median (Range)			23.7(19.7-30.6)	<7.5	2.0(n.d.-4.5)	8.7(n.d.-17.2)	<3.7(n.d.-4.3)	5.6(n.d.-13.6)	<3.7	46.7(38.4-79.2)	A <sup>b</sup>		
Mean±SD			24.3±3.6	-	-	9.1±4.6	-	6.2±4.0	-	49.8±15.1			
			GM (GSD)	24.1(1.2)	-	-	8.1(1.7)	-	5.3(1.9)	-	48.3(1.3)		
		2009	n>MDL (%)	5(83)	3(50)	2(33)	4(67)	2(33)	5(83)	1(17)	6(100)		
			Median (Range)	23.9(n.d.-38.2)	<6.3(n.d.-9.9)	<3.1(n.d.-5.9)	8.4(n.d.-33.0)	<3.1(n.d.-9.3)	9.7(n.d.-34.8)	<3.1(n.d.-4.3)	56.6(23.5-117.5)	A <sup>b</sup>	
			Mean±SD	24.0±9.9	-	-	11.4±11.5	-	12.5±11.8	-	61.6±34.2		
			GM (GSD)	21.8(1.7)	-	-	7.4(2.8)	-	8.4(2.9)	-	53.8(1.8)		
	Okinawa	1992, 1995	n>MDL (%)	3(43)	0(0)	1(14)	6(86)	0(0)	6(86)	0(0)	6(86)		
Median (Range)			<25.9(n.d.-49.2)	<10.4	** <5.2	14.4(n.d.-21.0)	<5.2	** 10.6(n.d.-16.2)	<5.2	55.5(n.d.-93.9)	A <sup>b</sup>		
Mean±SD			-	-	13.5±5.9	-	10.6±4.9	-	62.3±25.9	-	57.4(1.6)		
			GM (GSD)	-	-	-	11.9(1.9)	-	9.1(2.0)	-	57.4(1.6)		
		2009	n>MDL (%)	4(57)	6(86)	6(86)	7(100)	6(86)	7(100)	3(43)	7(100)		
			Median (Range)	19.2(n.d.-26.6)	9.0(n.d.-11.9)	** 4.0(n.d.-8.2)	20.7(12.0-30.6)	5.1(n.d.-10.1)	** 15.9(8.0-26.0)	<3.7(n.d.-8.1)	86.8(52.1-92.2)	A <sup>b</sup>	
			Mean±SD	<18.5	9.0±2.6	4.8±2.2	20.6±6.9	5.7±2.7	16.5±5.4	-	78.0±16.2		
			GM (GSD)	<18.4	8.6(1.4)	4.4(1.6)	19.6(1.4)	5.1(1.8)	15.7(1.4)	-	76.4(1.3)		

N.D.: not detected; MDL: method detection limit; SD: standard deviation; GM: geometric mean; GSD: geometric standard deviation.

Concentrations lower than the detection limits were considered to be equal to half of the detection limit for statistical analyses.

a. Median with asterisks (\*) are significantly different between time points (p<0.05 by Student's t test)

b. Median 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

		Year (No of pooled diets)		pg/g-f.w. n-PFOA (C8)	n-PFNA (C9)	n-PFDA (C10)	n-PFUnDA (C11)	n-PFDoDA (C12)	n-PFTrDA (C13)	n-PFTeDA (C14)	Total (C8-C14)				
China	Beijing	1993 (n=5)	n>MDL (%)	0(0)	3(60)	4(80)	4(80)	4(80)	4(80)	2(40)	4(80)				
			Median (Range)	<10	<4(<4-5.5)	3.9(<2-6.8)	4.3(<3-6.2)	2.9(<2-5.9)	6.7(<2-7.1)	<2(<2-3.0)	29.6(<12-35.7)				
			Mean±SD	<10	<4	4.0±2.2	4.3±1.8	3.3±1.8	5.6±2.6	<2	27.4±8.9				
				GM (GSD)	<10	<4	3.4(2.1)	3.9(1.7)	2.8(1.9)	4.6(2.4)	<2	25.8(1.5)	A <sup>b</sup>		
				2009 (n=5)	n>MDL (%)	0(0)	2(40)	5(100)	2(40)	3(60)	2(40)	5(100)			
				Median (Range)	<10	<4(<4-4.6)	4.5(2.8-5.6)	<3(<3-9.5)	2.7(<2-4.8)	2.6(<2-8.6)	<2(<2-6.3)	<25(<25-41.4)			
			Mean±SD	<10	<4	4.2±1.3	3.4±3.5	2.5±1.6	4.1±3.6	2.8±2.6	25.0±10.8				
			GM (GSD)	<10	<4	4.0(1.4)	<3	2.1(2.0)	2.8(2.8)	2.0(2.6)	<25	A <sup>b</sup>			
Korea	Seoul	1994 (n=5)	n>MDL (%)	0(0)	0(0)	2(40)	4(80)	2(40)	5(100)	1(20)	5(100)				
			Median (Range)	<10	<4	<2(<2-3.8)	4.6(<3-7.4)	<2(<2-2.9)	5.2(2.9-12.5)	<2(<2-2.1)	<25(<25-31.7)				
			Mean±SD	<10	<4	<2	4.8±2.5	<2	5.9±3.9	<2	<25				
				GM (GSD)	<10	<4	<2	4.1(1.9)	<sup>**</sup> <2	<sup>**</sup> 5.1(1.8)	<sup>**</sup> <2	<sup>**</sup> <25	<sup>**</sup> A <sup>b</sup>		
				2007 (n=5)	n>MDL (%)	0(0)	2(40)	5(100)	5(100)	5(100)	5(100)	5(100)			
				Median (Range)	<10	<4(<4-7.1)	4.5(3.2-5.9)	30.8(22.1-37.1)	9.1(5.9-11.2)	25.7(19.5-32.8)	4.9(2.7-6.0)	89.2(62.2-99.6)			
			Mean±SD	<10	<4	4.6±1.3	30.8±6.0	8.4±2.1	26.3±5.3	4.6±1.2	83.3±15.7				
			GM (GSD)	<10	<4	4.4(1.3)	<sup>**</sup> 30.3(1.2)	<sup>**</sup> 8.2(1.3)	<sup>**</sup> 25.9(1.2)	<sup>**</sup> 4.4(1.4)	<sup>**</sup> 82.1(1.2)	<sup>**</sup> B <sup>b</sup>			
Japan	Hokkaido	1992, 1995 (n=7)	n>MDL (%)	3(43)	1(14)	2(29)	7(100)	2(29)	7(100)	0(0)	7(100)				
			Median (Range)	<10(<10-13.6)	<4(<4-6.0)	<2(<2-2.3)	6.1(4.5-11.6)	<2(<2-2.2)	5.7(2.6-13.3)	<2	30.2(<25-37.1)				
			Mean±SD	<10	<4	<2	6.9±2.3	<2	6.8±4.0	<2	28.2±7.9				
					GM (GSD)	<10	<4	<2	6.6(1.3)	<sup>**</sup> <2	<sup>**</sup> 5.9(1.8)	<2	27.2(1.3)	<sup>**</sup> A <sup>b</sup>	
					2009 (n=7)	n>MDL (%)	2(29)	4(57)	3(43)	7(100)	5(71)	6(86)	3(43)	7(100)	
					Median (Range)	<10(<10-13.1)	4.4(<4-10.5)	<2(<2-5.8)	11.6(8.4-14.6)	2.7(<2-8.3)	8.0(<2-20.6)	<2(<2-4.5)	32.1(<25-75.5)		
				Mean±SD	<10	4.5±3.1	<2	11.7±2.5	3.2±2.5	9.6±6.5	2.1±1.4	40.0±18.1			
				GM (GSD)	<10	<4	<2	11.4(1.2)	<sup>**</sup> 2.5(2.1)	<sup>**</sup> 7.1(2.7)	<2	37.2(1.5)	<sup>**</sup> AB <sup>b</sup>		
		Kyoto	1996, 1997 (n=6)	n>MDL (%)	6(100)	1(17)	1(17)	5(83)	1(17)	5(83)	0(0)	6(100)			
	Median (Range)			13.3(11.5-18.9)	<4(<4-4.1)	<2(<2-2.5)	5.4(<3-9.8)	<2(<2-2.5)	3.0(<2-7.7)	<2	26.5(<25-45.2)				
	Mean±SD			14.4±3.2	<4	<2	5.5±2.7	<2	3.7±2.3	<2	29.3±9.3				
				GM (GSD)	14.1(1.2)	<4	<2	4.8(1.9)	<2	3.1(2.0)	<2	28.2(1.4)	A <sup>b</sup>		
			2009 (n=6)	n>MDL (%)	5(83)	3(50)	2(33)	4(67)	2(33)	5(83)	1(17)	6(100)			
			Median (Range)	14.8(<10-25.8)	<4(<4-6.7)	<2(<2-3.7)	5.1(<3-20.9)	<2(<2-5.8)	6.3(<2-22.0)	<2(<2-2.7)	34.1(<25-74.1)				
			Mean±SD	15.3±6.7	<4	<2	7.2±7.3	2.0±1.9	7.9±7.4	<2	39.2±22.0				
			GM (GSD)	13.8(1.7)	<4	<2	4.7(2.8)	<2	5.4(2.8)	<2	34.2(1.8)	A <sup>b</sup>			
	Okinawa	1992, 1995 (n=7)	n>MDL (%)	3(43)	0(0)	1(14)	6(86)	0(0)	6(86)	0(0)	7(100)				
Median (Range)			<10(<10-15.4)	<4	<2(<2-2.4)	5.6(<3-7.8)	<2	3.7(<2-6.3)	<2	<25(<25-32.1)					
Mean±SD			<10	<4	<2	5.1±2.0	<2	4.0±1.7	<2	<25					
			GM (GSD)	<10	<4	<2	4.6(1.7)	<sup>**</sup> <2	<sup>**</sup> 3.5(1.8)	<sup>**</sup> <2	<25	A <sup>b</sup>			
			2009 (n=7)	n>MDL (%)	4(57)	6(86)	6(86)	7(100)	6(86)	7(100)	3(43)	7(100)			
			Median (Range)	10.3(<10-15.0)	4.9(<4-7.0)	2.2(<2-4.8)	12.2(6.0-15.2)	2.6(<2-5.3)	8.8(4.0-13.6)	<2(<2-4.4)	44.9(30.2-54.4)				
			Mean±SD	<10	5.0±1.6	<2	11.1±3.3	3.1±1.4	9.0±2.9	2.1±1.5	42.4±8.9				
			GM (GSD)	<10	4.7(1.5)	<2	10.6(1.4)	<sup>**</sup> 2.8(1.7)	<sup>**</sup> 8.5(1.5)	<sup>**</sup> <2	41.5(1.3)	A <sup>b</sup>			

N.D.: not detected; MDL: method detection limit; SD: standard deviation; GM: geometric mean; GSD: geometric standard deviation.  
Concentrations lower than the detection limits were considered to be equal to half of the detection limit for statistical analyses.  
<sup>a</sup>. Values with asterisks (\*) are significantly different between time points (p<0.05 by Student's t test)  
<sup>b</sup>. Values 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