

Materials and Methods

Sampling of Market Products

Fresh meats (*akami* and *toro*) of Pacific bluefin tuna cultured in the Okinawa, Kagoshima, Kochi, Nagasaki, Wakayama, and Mie Prefectures, Japan, were purchased from retail outlets mainly in Sapporo, Hokkaido Prefecture, but also in the Tokyo metropolitan area during April 2003 and December 2007 (Fig. 1). Okinawa Prefecture is the southernmost and Mie Prefecture the northernmost of the six Prefectures in which tuna are cultured. Fresh meat samples from FC tuna (Wakayama Prefecture) were purchased from a retail outlet in Nara Prefecture during July and August 2005 and in June 2008. To distinguish the tuna cultured in Wakayama Prefecture from larval fish and gamete (FC) tuna, we hereafter refer to them as Wakayama-I and -II, respectively.

We discriminated between the cultured bluefin tuna and wild bluefin, yellowfin, and albacore tuna sold in retail outlets not only on the basis of labeling but also by appearance and the results of testing. The tuna samples were stored at -20°C until analysis.

Chemical Analyses

T-Hg concentrations in the tuna samples were determined using a flameless atomic absorption spectrophotometer (HG-1; Hiranuma Sangyo, Ibaraki, Japan) after digestion by a mixture of HNO_3 , HClO_4 , and H_2SO_4 (Endo et al. 2003). M-Hg concentrations in the samples were determined using a gas chromatograph (GC-14A; Shimadzu, Kyoto, Japan) with a ^{63}Ni electron capture detector (ECD) (Haraguchi et al. 2000). DOLT-2 (National Research Council of Canada) and CRB463 (BCR [European Commission]) were used as analytical quality-control samples for the determination of T-Hg and M-Hg as reported previously (Endo et al. 2003, 2004, 2008). The mean recoveries of T-Hg and M-Hg from the quality controls were 95% ($n = 5$) and 88% ($n = 4$), respectively. The M-Hg data were corrected by the recoveries.

Concentrations of organohalogen compounds in the tuna samples were determined as reported previously (Hisamichi et al. 2010). Briefly, the lipids in the minced samples were extracted three times by hexane. The combined extracts were concentrated, and the lipid content (hexane-extractable lipid [HEL]) was determined gravimetrically. A portion of the HEL (10–100 mg) was spiked with an internal standard (30 ng CB205), and 13 PCB congeners (CB99, CB101, CB118, CB138, CB146, CB149, CB153, CB170, CB183, CB187, CB194, CB199, and CB208), *p,p'*-DDE, trans-nonachlor, HCB, TBA, and Q1 in the HEL were analyzed using a gas chromatograph (GC-2014;

Shimadzu, Kyoto, Japan) equipped with ECD. All PCBs congeners, *p,p'*-DDE, trans-nonachlor, and HCB were purchased from Accu Standard (New Haven, CT). Quality assurance for anthropogenic compounds was confirmed by analyzing standard reference materials (cod liver oil 1588b) provided from the National Institute of Standard and Technology (Gaithersburg, MD). Data from our laboratory were in good agreement with the certified values (within 15% difference).

The stable isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) in dried *akami* samples after the removal of lipids using chloroform/methanol extraction were analyzed by mass spectrometry (Delta S; Finnigan, Germany) coupled with an elemental analyzer (EA1108; Fisons, Italy) as reported previously (Endo et al. 2009).

Concentrations of T-Hg and M-Hg in tuna samples were expressed by Hg concentration/wet-weight basis, and organohalogen concentrations were expressed on a wet-weight basis as well as on a lipid-weight basis.

Statistical Analysis

The data were analyzed using Statcell 12 (Scheffe's F or Tukey-Kramer test), and the level of significance was set at $p < 0.05$. All data were expressed as means \pm SDs.

Results

Analytical results for $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, T-Hg, M-Hg, HEL, and organohalogen compounds in *akami* and *toro* samples from Okinawa, Kagoshima, Kochi, and Nagasaki Prefectures (southern region) and Wakayama (-I and -II) and Mie Prefectures (central region) are listed in Table 1.

The average T-Hg and M-Hg levels in *akami* samples from Wakayama-II (0.67 ± 0.14 and 0.43 ± 0.07 $\mu\text{g}/\text{wet g}$ ($n = 6$), respectively) were the highest among the seven locations studied, exceeding the Japanese limits for T-Hg (0.4 $\mu\text{g}/\text{wet g}$) and M-Hg (0.3 $\mu\text{g}/\text{wet g}$), respectively (Table 1; Fig. 2). In contrast, average T-Hg and M-Hg in *akami* and *toro* samples from the southern region tended to increase with a decrease in latitude. The average levels of T-Hg and M-Hg found in *toro* samples from all locations were significantly lower than the corresponding levels in *akami* samples ($p < 0.05$), with the percentage of M-Hg to T-Hg found in those samples being in the range of 60–90%.

The average HEL value in *akami* samples tended to increase with an increase in latitude, except for samples from Wakayama-I and -II (Table 1; Fig. 2), and the average HEL in *akami* samples from Wakayama-II was the lowest among all of the locations. The average HEL concentrations in *toro* samples from all locations were significantly greater than the corresponding levels found in

Table 1 Analytical results of bluefin tuna cultured in different regions of Japan^a

Region	Tissue type	(‰)		(μ/wet g)		(ng/wet g)						(%)
		δ ¹³ C	δ ¹⁵ N	T-Hg	M-Hg	PCBs	p,p'-DDE	Trans-nonachlor	Q1	TBA	HCB	HEL
Okinawa	Akami (n = 7)	-17.2 ± 0.7	13.4 ± 1.5 ^a	0.33 ± 0.16 ^a	0.26 ± 0.11 ^a	27.7 ± 15.1 ^a	33.5 ± 18.7 ^a	5.1 ± 3.9	12.0 ± 3.7	1.29 ± 0.95 ^a	1.02 ± 0.51 ^a	5.7 ± 3.9
	Toro (n = 8)	ND	ND	0.17 ± 0.11 ^a	0.15 ± 0.08 ^a	368 ± 146	591 ± 431 ^a	72.7 ± 44.6 ^a	176 ± 104	10.6 ± 8.9 ^a	5.98 ± 4.24 ^a	33.4 ± 12.6
Kagosima	Akami (n = 10)	-17.1 ± 0.8	14.0 ± 0.9 ^a	0.31 ± 0.09 ^a	0.24 ± 0.07 ^a	50.7 ± 26.5	42.4 ± 21.3 ^a	8.2 ± 5.1	9.5 ± 5.9	1.31 ± 1.20 ^a	0.97 ± 0.82 ^a	7.0 ± 2.1
	Toro (n = 9)	ND	ND	0.20 ± 0.08 ^a	0.16 ± 0.07 ^a	528 ± 225	506 ± 257 ^a	164 ± 88 ^b	191 ± 87	5.90 ± 2.93 ^a	5.46 ± 1.80 ^a	39.6 ± 11.7
Kochi	Akami (n = 11)	-17.1 ± 0.70	14.7 ± 0.3	0.26 ± 0.06 ^a	0.21 ± 0.04 ^a	45.4 ± 24.2	135 ± 101	7.1 ± 3.7	14.3 ± 5.8	0.75 ± 0.30 ^a	0.99 ± 0.56 ^a	7.0 ± 3.6
	Toro (n = 7)	ND	ND	0.16 ± 0.08 ^a	0.13 ± 0.06 ^a	519 ± 388	1211 ± 843 ^a	76.1 ± 57.6	163 ± 141	5.36 ± 2.22 ^a	6.00 ± 1.95 ^a	39.5 ± 5.8
Nagasaiki	Akami (n = 11)	-17.4 ± 0.9	15.5 ± 1.2 ^b	0.21 ± 0.12 ^a	0.16 ± 0.08 ^a	87.5 ± 69.5 ^b	188 ± 193 ^b	13.2 ± 9.3	22.7 ± 8.0	3.18 ± 1.90 ^a	2.05 ± 1.28	9.2 ± 5.4 ^a
	Toro (n = 7)	ND	ND	0.11 ± 0.07 ^a	0.09 ± 0.04 ^a	636 ± 270 ^b	2183 ± 1042 ^b	122 ± 63	301 ± 134	14.8 ± 4.0 ^a	9.16 ± 2.48	38.1 ± 13.0
Wakayama-I	Akami (n = 4)	-16.6 ± 0.4	14.4 ± 0.8	0.24 ± 0.05 ^a	0.20 ± 0.04 ^a	21.5 ± 14.2 ^a	16.2 ± 7.7 ^a	5.0 ± 4.1	12.9 ± 9.6	1.94 ± 1.87 ^a	1.18 ± 1.12	5.1 ± 4.0
	Toro (n = 10)	ND	ND	0.14 ± 0.05 ^a	0.11 ± 0.03 ^a	144 ± 71 ^a	127 ± 123 ^a	29.9 ± 13.0 ^a	81.3 ± 38.9	10.3 ± 5.1 ^a	6.11 ± 2.65 ^a	29.2 ± 13.2
Wakayama-II (FC)	Akami (n = 6)	-16.5 ± 0.2	13.6 ± 0.3 ^a	0.67 ± 0.14 ^b	0.43 ± 0.07 ^b	22.5 ± 25.8 ^a	13.4 ± 15.4 ^a	8.2 ± 10.0	9.7 ± 9.9	0.53 ± 0.53 ^a	0.36 ± 0.35 ^a	2.3 ± 1.8 ^b
	Toro (n = 12)	ND	ND	0.43 ± 0.13 ^b	0.29 ± 0.07 ^b	224 ± 134 ^a	147 ± 94 ^a	87.0 ± 55.5 ^a	121 ± 83	3.05 ± 2.01 ^a	3.06 ± 2.68 ^a	25.1 ± 14.3
Mie	Akami (n = 5)	-17.5 ± 0.1	13.5 ± 0.3 ^a	0.25 ± 0.05 ^a	0.19 ± 0.04 ^a	37.4 ± 36.0	16.8 ± 7.7 ^a	11.5 ± 7.8	15.2 ± 12.3	6.12 ± 2.88 ^b	2.77 ± 1.37 ^b	10.5 ± 4.6 ^a
	Toro (n = 9)	ND	ND	0.13 ± 0.05 ^a	0.12 ± 0.04 ^a	199 ± 144 ^a	91.3 ± 69.7 ^a	44.8 ± 23.6 ^a	66.0 ± 48.3	33.1 ± 24.7 ^b	15.51 ± 13.04 ^b	45.7 ± 14.3
Region	(μg/g lipid)											
	PCBs	p,p'-DDE	Trans-nonachlor	Q1	TBA	HCB						
Okinawa	0.54 ± 0.27	0.60 ± 0.27 ^a	0.09 ± 0.05 ^a	0.21 ± 0.08	0.022 ± 0.004 ^a	0.020 ± 0.007						
	1.30 ± 0.52	2.01 ± 0.93 ^a	0.25 ± 0.17	0.59 ± 0.21 ^a	0.032 ± 0.020 ^a	0.017 ± 0.008 ^a						
Kagosima	0.81 ± 0.51	0.66 ± 0.37 ^a	0.13 ± 0.09	0.13 ± 0.05 ^a	0.019 ± 0.012 ^a	0.014 ± 0.009						
	1.32 ± 0.39	1.32 ± 0.40 ^a	0.40 ± 0.15	0.47 ± 0.11 ^a	0.017 ± 0.013 ^a	0.015 ± 0.006 ^a						
Kochi	0.71 ± 0.37	1.94 ± 1.01	0.11 ± 0.07 ^a	0.23 ± 0.10	0.012 ± 0.003 ^a	0.014 ± 0.004						
	1.29 ± 0.98	2.95 ± 1.88 ^a	0.19 ± 0.13 ^a	0.40 ± 0.33	0.013 ± 0.005 ^a	0.015 ± 0.005 ^a						
Nagasaiki	0.98 ± 0.41 ^b	2.25 ± 1.60 ^b	0.15 ± 0.07	0.29 ± 0.13	0.042 ± 0.024 ^a	0.026 ± 0.015						
	1.63 ± 0.44	5.48 ± 1.82 ^b	0.30 ± 0.12	0.76 ± 0.23 ^a	0.042 ± 0.018 ^a	0.026 ± 0.009						
Wakayama-I	0.47 ± 0.13	0.44 ± 0.22 ^a	0.09 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.04	0.032 ± 0.011	0.021 ± 0.012						
	0.47 ± 0.11	0.37 ± 0.22 ^a	0.10 ± 0.02 ^a	0.27 ± 0.07	0.037 ± 0.013 ^a	0.020 ± 0.002						
Wakayama-II (FC)	0.84 ± 0.32	0.45 ± 0.21 ^a	0.26 ± 0.16 ^b	0.36 ± 0.12 ^b	0.032 ± 0.011 ^a	0.021 ± 0.012						
	0.93 ± 0.36	0.59 ± 0.20 ^a	0.35 ± 0.13 ^b	0.49 ± 0.24	0.012 ± 0.004 ^a	0.011 ± 0.004 ^a						
Mie	0.34 ± 0.15	0.16 ± 0.03 ^a	0.10 ± 0.04 ^a	0.14 ± 0.07 ^a	0.059 ± 0.009 ^b	0.026 ± 0.004						
	0.43 ± 0.23 ^a	0.19 ± 0.09 ^a	0.10 ± 0.03 ^a	0.14 ± 0.06 ^b	0.069 ± 0.033 ^b	0.032 ± 0.018 ^b						

ND not determined

^a PCB concentration was the sum of 13 PCB congener concentrations. Different superscript letter indicate significant difference between the locations ($p < 0.05$)

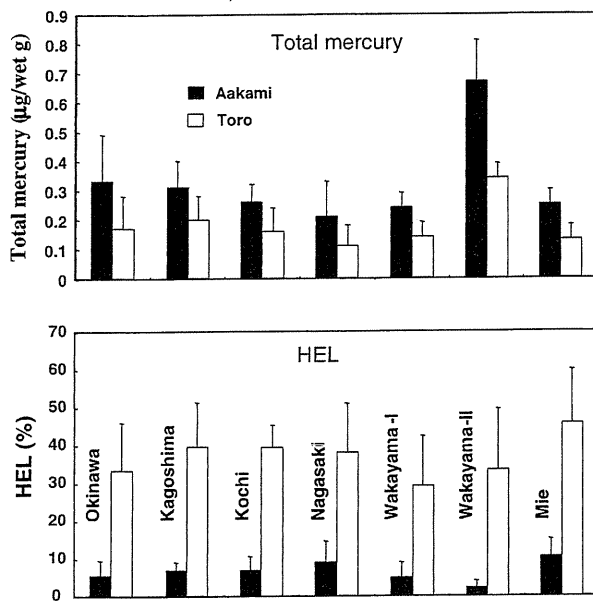


Fig. 2 T-Hg and HEL in *akami* and *toro* samples from tuna cultured in Okinawa, Kagoshima, Kochi, Nagasaki, Wakayama, and Mie Prefectures (see Table 1)

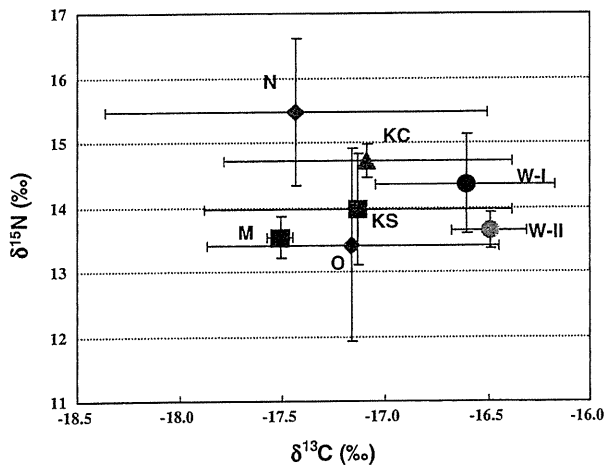


Fig. 3 Stable isotope ratios in *akami* samples from tuna cultured in Okinawa (O), Kagoshima (KS), Kochi (KC), Nagasaki (N), Wakayama (W-I and W-II), and Mie (M) Prefectures (see Table 1)

akami samples, and no clear latitude-dependent increase in HEL concentration was observed in *toro* samples.

The average $\delta^{15}\text{N}$ value found in *akami* samples from tuna cultured in the southern region was the lowest in Okinawa Prefecture and highest in Nagasaki Prefecture: The $\delta^{15}\text{N}$ value tended to increase with an increase in latitude (Table 1; Fig. 3). However, $\delta^{15}\text{N}$ values in Wakayama Prefecture (-I and -II) and Mie Prefecture (central region) were lower than that in Nagasaki Prefecture.

In contrast, no spatial trend was observed in the average $\delta^{13}\text{C}$ values among the seven locations. Furthermore, no correlation was found between $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of combined *akami* samples from all seven locations.

PCB (sum of 13 congeners), *p,p'*-DDE, trans-nonachlor, Q1, TBA, and HCB levels, all expressed on a wet-weight basis, were approximately 10 times greater in *toro* samples than in *akami* samples from the seven locations, respectively (Table 1). PCB concentrations found in some *toro* samples exceeded the limit for PCBs set by the Japanese government (500 ng/wet g). Contamination levels of PCBs and *p,p'*-DDE found in *akami* and *toro* samples of Nagasaki Prefecture, expressed on both wet-weight (Figs. 4, S1) and lipid-weight bases (Figs. 5, S2), were the highest among the seven locations, and the levels of PCBs and *p,p'*-DDE tended to increase with increases in latitude for locations in the southern region (Okinawa, Kagoshima, Kochi, and Nagasaki Prefectures). Contamination levels of PCBs and *p,p'*-DDE found in *akami* and *toro* samples from Wakayama-I and -II and Mie Prefecture (central region), expressed on a wet-weight basis, were lower than those from samples obtained from tuna in the southern region, respectively (Figs. 4, S1). No spatial trend was found in contaminations levels of trans-nonachlor or Q1 in *akami* and *toro* samples (Figs. 4, 5, S1, S2). Levels of TBA and HCB in *akami* and *toro* samples from the southern and central regions were one or two orders of magnitude lower than those of *p,p'*-DDE, PCBs, trans-nonachlor, and Q1 (Figs. 4, 5, S1, S2). High levels of TBA and HCB were found in *akami* and *toro* samples from Nagasaki and Mie Prefectures. Contamination levels of *p,p'*-DDE found in *akami* and *toro* samples cultured in the southern region, except for Kagoshima Prefecture, were greater than those of PCBs, respectively, whereas those of PCBs in the central region were lower.

Figure 6 shows the relation between HEL (%) and T-Hg, M-Hg, PCBs, *p,p'*-DDT, trans-nonachlor, Q1, TBA, and HCB concentration (wet-weight basis) in the combined samples of *akami* and *toro*. T-Hg and M-Hg concentrations decreased with an increase in HEL, whereas all organohalogen compounds increased with an increase in HEL, up to approximately 60%, at which point they reached constant levels.

Discussion

Except for Wakayama-II, average concentrations of T-Hg and M-Hg in *akami* and *toro* samples did not exceed the permitted levels in fish and shellfish set at 0.4 and 0.3 $\mu\text{g}/\text{wet g}$, respectively (Fig. 2), although this Japanese legislation for Hg does not cover tuna. In general, the Hg contamination level in tuna correlates to their body length and weight

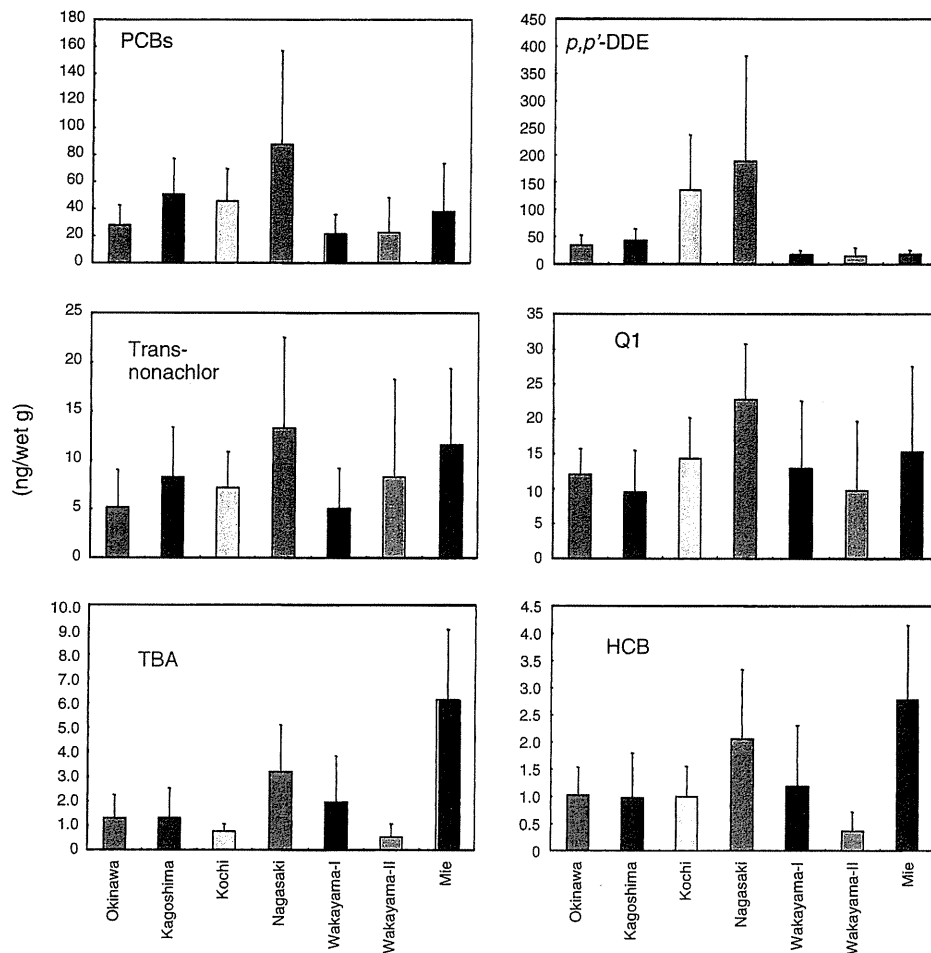


Fig. 4 Levels of organohalogen compounds in *akami* samples from tuna cultured in Okinawa, Kagoshima, Kochi, Wakayama, and Mie Prefectures expressed on a wet weight basis (see Table 1)

(Yamashita et al. 2005; Kojadinovic et al. 2006). We previously reported that the average levels of T-Hg and M-Hg in *akami* samples from wild bluefin tuna caught off the coast of Japan were 1.45 ± 0.73 and 1.25 ± 0.66 $\mu\text{g}/\text{wet g}$, respectively, although the body size of the tuna analyzed was unknown (Hisamichi et al. 2010). Because commercially available tuna cultured in Japan are generally younger and smaller (approximately 2.5–3 years and approximately 30–50 kg), lower contamination levels of T-Hg and M-Hg found in tuna samples cultured in Japan may be due to the younger age and smaller size (Tudela and Garcia 2004). The fattening of tuna has been reported to decrease Hg levels in the muscle of southern bluefin tuna (Balshaw et al. 2008a, b) and probably in that of Atlantic bluefin tuna (Vizzini et al. 2010). However, it is unclear whether the culture techniques used in Japan decrease the Hg concentration in the tuna muscle because no comparative data on Hg concentrations in wild and cultured tuna of similar sizes (and ages) are available.

T-Hg and M-Hg levels in *akami* samples from Wakayama-II (0.67 ± 0.14 and 0.43 ± 0.07 $\mu\text{g}/\text{wet g}$, respectively, $n = 6$) were the highest among all of the locations (Fig. 2). In agreement with the present values for T-Hg, Ando et al. (2008) reported that the average T-Hg concentration in *akami* samples from Wakayama-II (FC tuna, approximately 20–60 kg) was approximately 0.6 $\mu\text{g}/\text{wet g}$. The Wakayama-II farm (Kushimoto, Wakayama Prefecture) was located near the Wakayama-I location. However, contamination levels of T-Hg and HEL (Fig. 2) and some organohalogenes (Figs. 4, 5, S1, S2) in the samples from Wakayama-II were markedly different from those in samples from Wakayama-I. The differences in HEL and other contaminants may be ascribed to the differences in HEL and contaminant levels in the prey fish used as bait rather than in the seawater. The contamination level of T-Hg in *akami* samples from Wakayama-II was similar to that in samples from wild bluefin tuna at an average body weight of 50 kg (0.59 ± 0.34 $\mu\text{g}/\text{wet g}$,

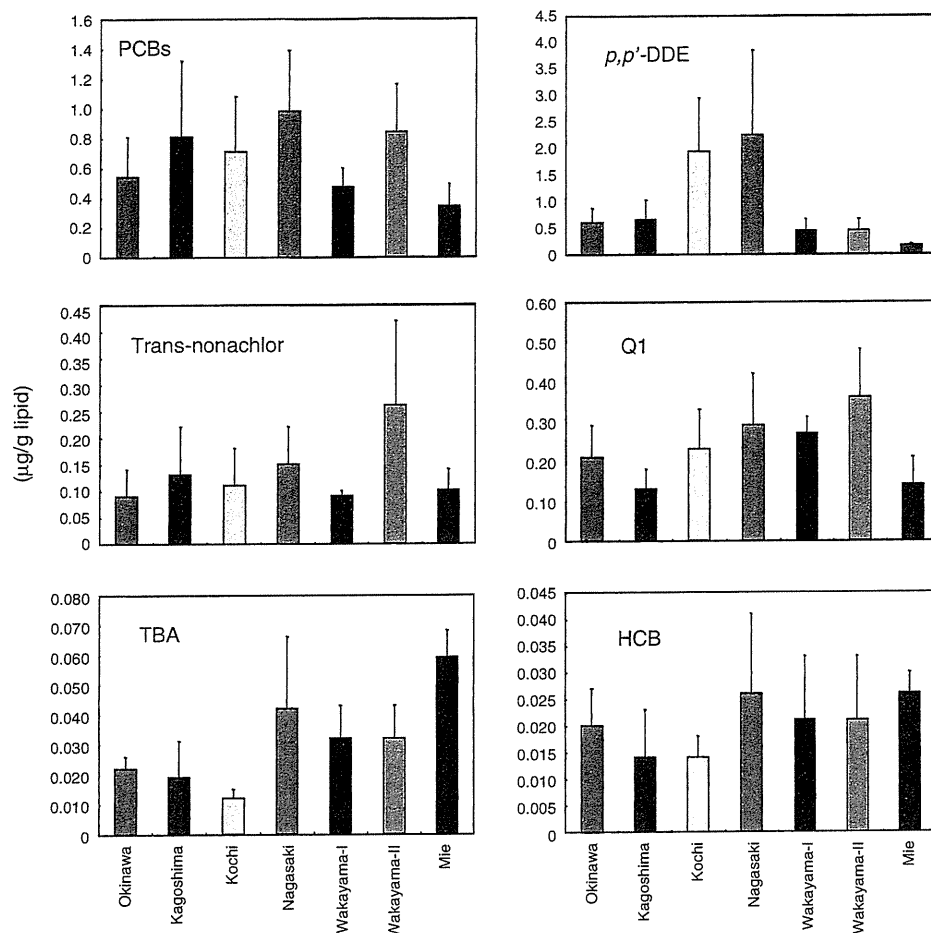


Fig. 5 Levels of organohalogen compounds in *akami* samples from tuna cultured in Okinawa, Kagoshima, Kochi, Wakayama, and Mie Prefectures expressed on a lipid basis (see Table 1)

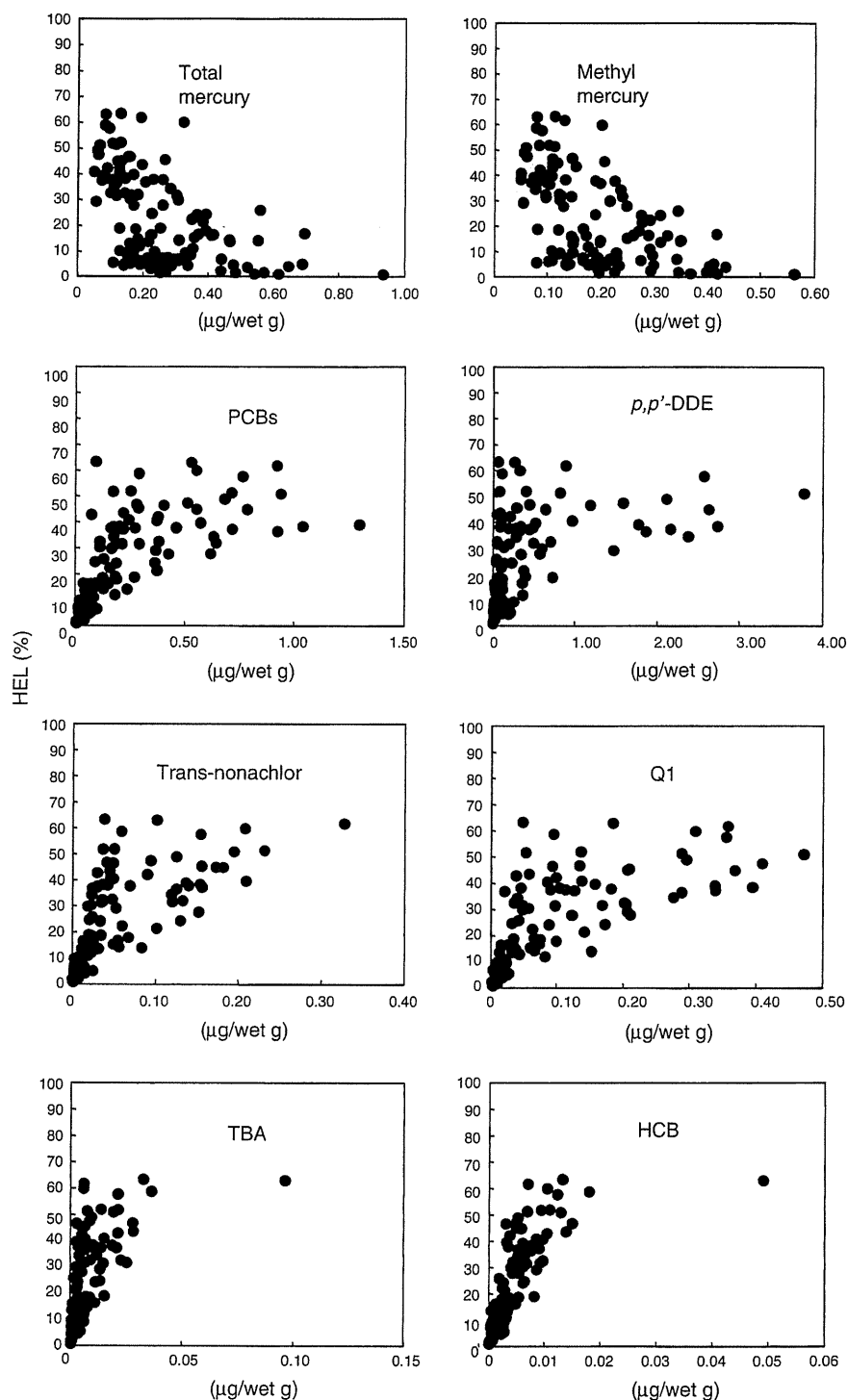
$n = 15$ [Yamashita et al. 2005]). However, Hg concentration in wild tuna increases with increased body weight, whereas that in Wakayama-II samples was almost constant between 20 and 60 kg (approximately $0.6 \mu\text{g}/\text{wet g}$ [Ando et al. 2008]). Probably the Hg concentration is greater in smaller FC tuna (Wakayama-II) than in wild tuna, whereas it is lower in larger FC tuna. In contrast, HEL in cultured tuna from Wakayama-II ($2.3 \pm 1.8\%$) was the lowest among all of the locations and was compatible with that in wild bluefin tuna caught off Japan ($1.28 \pm 1.00\%$, $n = 62$ [Hisamichi et al. 2010]). Figure 6 shows the negative correlations between HEL (%) and T-Hg or M-Hg concentration. In agreement with these findings, Balshaw et al. (2008b) reported an inverse relation between lipid content and Hg concentration in muscle of farmed tuna. A lower lipid content, expressed by HEL, may be an additional reason for the greater Hg concentration observed in *akami* samples from Wakayama-II.

T-Hg level in *akami* samples tended to be greater those in tuna farmed in the southern region compared with those

from the northern region, except for Wakayama-II (Fig. 2). We previously reported that T-Hg contamination levels in red meat (muscle) of toothed whale species (Endo et al. 2010) and wild bluefin, yellowfin, and albacore tuna (Hisamichi et al. 2010) tended to be greater in the southern region, probably reflecting greater Hg concentrations in the southern marine environment. The same spatial trend in Hg contamination in the tuna cultured in Japan, except for Wakayama (-II) and Mie Prefectures, may reflect Hg concentrations in the marine environment around the farm locations.

Contamination levels of *p,p'*-DDE in tuna cultured in Okinawa, Kagoshima, Kochi, and Nagasaki Prefectures (southern region) tended to increase with an increase in latitude (Figs. 4, 5, S1, S2). A similar but less prominent tendency was also found in the contamination levels of PCBs. Similarly, we previously reported that contamination levels of *p,p'*-DDE and PCBs in wild bluefin, yellowfin, and albacore tuna tended to be greater in the northern and central regions than in the southern region of

Fig. 6 Correlation between HEL and T-Hg, M-Hg, or organohalogen compounds in combined samples of *akami* and *toro* (see Table 1)



Japan, probably reflecting the spatial contamination pattern of those compounds in the marine environment (Hisamichi et al. 2010). In contrast, contamination levels of *p,p'*-DDE in Wakayama-I and -II and Mie Prefecture (central region) were lower than those in the southern region. The reason for the lower levels of *p,p'*-DDE and PCBs found in the

central region remains unclear. A possible reason for these spatial differences in *p,p'*-DDE and PCBs is the existence of differences in the contamination levels of those compounds in the prey fish used as bait.

No clear spatial trends in the contamination levels of trans-nonachlor and Q1 were observed (Figs. 4, 5, S1, S2).

The contamination levels of trans-nonachlor and Q1 were markedly lower than those of *p,p'*-DDE and PCBs. The lower contamination levels of trans-nonachlor have been reported in wild bluefin tuna caught off the coast of Japan, whereas the contamination level of Q1 in the wild tuna was the same as that of *p,p'*-DDE and PCBs (Hisamichi et al. 2010). The reason for the difference in Q1 accumulation remains open.

Contamination levels of *p,p'*-DDE, PCBs, and trans-nonachlor in *akami* samples from cultured tuna (Fig. 5), expressed on a lipid-weight basis, were similar to those in samples from wild tuna caught off the coast of Japan (Hisamichi et al. 2010). Similarly, Vizzini et al. (2010) reported that contamination levels of PCBs, *p,p'*-DDE, and HCB in wild bluefin tuna caught in the Mediterranean Sea, expressed on a lipid basis, were similar to those in farmed bluefin tuna.

Contamination levels of TBA and HCB in *toro* samples, expressed on both wet-weight and lipid-weight bases, were one or two orders of magnitude lower than those of *p,p'*-DDE and PCBs. The highest averages of TBA and HCB (approximately 69 ng/g lipid and 32 ng/g lipid, respectively) were found in the *toro* sample of Mie Prefecture (Table 1), which is contrary to the spatial pattern observed for *p,p'*-DDE and PCB contamination. TBA is reported to be derived from the natural methylation of tribromophenol, which is mostly produced by algae, and found in the muscle of wild bluefin tuna (0.8–6.4 ng/g lipid) and farmed bluefin tuna (0.4–1.0 ng/g lipid) from the Mediterranean Sea (Penta-Abaurrea et al. 2009). The contamination level of HCB in muscle of wild bluefin tuna from the Mediterranean Sea (approximately 36 kg body weight [$n = 7$]) was 5.2 ± 3.5 ng/g lipid (Corsolini et al. 2007), and those in the muscle of skipjack tuna and in the liver of wild bluefin tuna from the Pacific Ocean were 1–10 ng/g lipid (Ueno et al. 2003) and 10–30 ng/g lipid (Ueno et al. 2002), respectively. Contamination levels of TBA and HCB found in bluefin tuna cultured in Japan were greater and similar levels to the reported levels, respectively.

Average $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values in *akami* samples from tuna cultured in Japan ranged between 13.4 and 15.5 and between -17.5 and -16.5 , respectively (Table 1; Fig. 3). In contrast, average $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values in *akami* samples from wild bluefin tuna caught off the coast of Japan were 13.3 ± 1.1 and -16.9 ± 0.5 ($n = 61$), respectively (Hisamichi et al. 2010). Thus, the average $\delta^{15}\text{N}$ in cultured tuna in Japan was greater than that in wild tuna. In agreement with these findings, Vizzini et al. (2010) reported a greater $\delta^{15}\text{N}$ value in farmed bluefin tuna than in wild bluefin tuna from the Mediterranean Sea. Greater $\delta^{15}\text{N}$ values have also been reported in farmed fish than in wild fish of other species (Serrano et al. 2007).

The average $\delta^{15}\text{N}$ value in *akami* samples from the southern region (four locations) tended to increase with an

increase in latitude, and that in samples from the central region was intermediate compared with those of the southern region. In contrast, there were no clear spatial differences in $\delta^{13}\text{C}$ values. No correlation was found between $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values in combined *akami* samples from the southern and central regions. In contrast, we previously reported a positive correlation between $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values in combined wild bluefin tuna samples from both regions, probably reflecting their wide-ranging migration (Hisamichi et al. 2010). We also reported negative correlations due to latitudinal effect in combined yellowfin tuna samples, combined albacore tuna samples (Hisamichi et al. 2010), and combined toothed-whale samples (Endo et al. 2010). Fish culturing may decrease the strength of these migration- and/or the latitude-related correlations.

Average HEL values in *akami* samples, except for those from Wakayama-I and -II, tended to increase with an increase in latitude (Fig. 2). We previously reported greater HEL values in *akami* samples from wild bluefin tuna caught in the northern region than in those in the southern region of Japan (Hisamichi et al. 2010). Furthermore, we reported that the average HEL value in samples from wild yellowfin and albacore tuna tended to be greater in the central region than in the southern region (Hisamichi et al. 2010). The difference in seawater temperature may be a possible cause for the latitude-dependent tendency observed in HEL values. However, the reason for the lower HEL value in tuna samples from Wakayama-I and -II is unclear. Lower HEL concentrations in prey fish used for tuna culturing is a possible reason.

The average HEL value in *toro* samples from each region was markedly greater than that in the respective *akami* samples. The latitude-dependent increase in HEL observed in *akami* samples was not found in *toro* samples. Fattening may decrease spatial difference in the lipid content of *toro* samples. A greater lipid content in cultured tuna compared with wild tuna was reported in bluefin tuna from the Mediterranean Sea (Vizzini et al. 2010) and in the southern bluefin tuna (Padula et al. 2008).

Nakao et al. (2007) analyzed T-Hg levels in prey fish used in Wakayama-II (FC tuna), but T-Hg levels in the prey fish used in other locations in Japan are unavailable. Furthermore, no data on contamination levels of organohalogen compounds in prey fish used in tuna culturing in Japan are available for business reasons. To elucidate spatial trends in Hg and organohalogen contaminations found in cultured tuna in Japan, analyses of the contamination levels in prey fish are necessary.

Acknowledgments This work was supported by Grants-in-Aid from the Japan Society for the Promotion of Science (Grants No. B20404006 and C21590135). Stable isotope analyses were conducted

using the Cooperative Research Facilities of the Center for Ecological Research, Kyoto University.

References

- Ando M, Seoka M, Nakatani M, Tsujisawa T, Katayama Y, Nakao M et al (2008) Trial for quality control in mercury contents by using trail muscle of full-cycle cultured bluefin tuna (*Thunnus orientalis*). *J Food Protect* 71:595–601
- Balshaw S, Edwards JW, Ross KE, Ellis D, Padula DJ, Daughtry BJ (2008a) Empirical models to identify mechanisms driving reductions in tissue mercury concentration during culture of farmed southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii*. *Mar Pollut Bull* 56:2009–2017
- Balshaw S, Edwards JW, Ross KE, Daughtry BJ (2008b) Mercury distribution in the muscular tissue of farmed southern bluefin tuna (*Thunnus maccoyii*) is inversely related to the lipid content of tissue. *Food Chem* 111:616–621
- Corsolini S, Sará G, Borghesi N, Focardi S (2007) HCB, p, p'-DDE and PCB ontogenetic transfer and magnification in bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) from the Mediterranean Sea. *Environ Sci Technol* 41:4227–4233
- Endo T, Hotta Y, Haraguchi K, Sakata M (2003) Mercury contamination in the red meat of whales and dolphins marketed for human consumption in Japan. *Environ Sci Technol* 37:2681–2685
- Endo T, Haraguchi K, Cipriano F, Simmonds MP, Hotta Y, Sakata M (2004) Contamination by mercury and cadmium in the cetacean products from Japanese market. *Chemosphere* 54:1653–1662
- Endo T, Hisamichi Y, Koichi H, Kato Y, Ohta C, Koga N (2008) Hg, Zn and Cu levels in the muscle and liver of tiger sharks (*Galeocerdo cuvier*) from the coast of Ishigaki Island, Japan: relationship between metal concentrations and body length. *Mar Pollut Bull* 56:1774–1780
- Endo T, Hisamichi Y, Kimura O, Kotaki Y, Kato Y, Ohta C et al (2009) Contamination levels of mercury in the muscle of female and male of spiny dogfish (*Squalus acanthias*) caught off the coast of Japan. *Chemosphere* 77:1333–1337
- Endo T, Hisamichi Y, Kimura O, Haraguchi K, Lavery S, Dalebout ML et al (2010) Stable isotope ratios of carbon and nitrogen and mercury concentration in 13 toothed whale species from the western Pacific Ocean off Japan. *Environ Sci Technol* 44:2675–2681
- Haraguchi K, Endo T, Sakata M, Masuda Y (2000) Contamination survey of heavy metals and organochlorine compounds in cetacean products purchased in Japan. *J Food Hyg Soc Jpn* 41:287–296
- Hisamichi Y, Haraguchi K, Endo T (2010) Levels of mercury and organochlorine compounds and stable isotope ratios in three tuna species taken from different regions of Japan. *Environ Sci Technol* 44:5971–5978
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) (2003) 61st meeting, Rome, Italy, June 10–19
- Kelly JF (2000) Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Can J Zool* 78:1–27
- Kojadinovic J, Potier M, Le Corre M, Cosson RP, Bustamante P (2006) Mercury content in commercial pelagic fish and risk assessment in the Western Indian Ocean. *Sci Total Environ* 366:688–700
- Nakao M, Seoka M, Tsukamasa Y, Kawasaki K-I, Ando M (2007) Possibility for decreasing of mercury content in bluefin tuna *Thunnus orientalis* by fish culture. *Fish Sci* 73:724–731
- Padula DJ, Daughtry BJ, Nowak BF (2008) Dioxins, PCBs, metalloids, pesticides and antimicrobial residues in wild and farmed Austrian southern bluefin tuna (*Thynnus maccoyii*). *Chemosphere* 72:34–44
- Pena-Abaurrea M, Wejls L, Ramos L, Borghesi N, Corsolini S, Neels H et al (2009) Anthropogenic and naturally-produced organobrominated compounds in bluefin tuna from the Mediterranean Sea. *Chemosphere* 76:1477–1482
- Serrano R, Blanes MA, Orero L (2007) Stable isotope determination in wild and farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) tissues from the western Mediterranean. *Chemosphere* 69:1075–1080
- Tudela S, Garcia R (2004) Tuna farming in the Mediterranean: the bluefin tuna stock and stake. <http://www.assets.panda.org/downloads/tunafarming2004.pdf>. Accessed 21 Feb 2011
- Ueno D, Iwata H, Tanabe S, Ikeda K, Koyama J, Yamada H (2002) Specific accumulation of persistent organochlorines in bluefin tuna collected from Japanese coastal water. *Mar Pollut Bull* 45:254–261
- Ueno D, Takahashi S, Tanaka H, Subramanian AN, Fillmann G, Nakata H et al (2003) Global pollution monitoring of PCBs and organochlorine pesticides using skipjack tuna as a bioindicator. *Arch Environ Contam Toxicol* 45:378–389
- Vizzini S, Tramati C, Mazzola A (2010) Comparison of stable isotope composition and inorganic and organic contaminant levels in wild and farmed bluefin tuna, *Thynnus thynnus*, in the Mediterranean Sea. *Chemosphere* 78:1236–1243
- Yamashita Y, Omura Y, Okazaki E (2005) Total mercury and methylmercury levels in commercially important fishes in Japan. *Fish Sci* 71:1029–1035

日中韓における母乳を用いた残留性 有機汚染物質のモニタリング

京都大学医学研究科環境衛生学分野

小泉昭夫 藤井由希子 新添多聞 原田浩二

要 旨

残留性有機汚染物質 (Persistent Organic Pollutants; POPs) は環境中のいたるところに遍在し、長期間残留するとともに生物濃縮性を有する環境汚染物質である。POPs汚染に関して母乳をスクリーニングすることは乳児の現在の曝露状況を把握する上で重要である。POPsは脂溶性があるため、血液から母乳に受動輸送される。東アジアの各国で母乳にどのようなPOPsが含まれるかは異なる。中国人の母乳ではDDTやヘキサクロロベンゼン濃度が高いが、日本人ではクロルデン、PCB、ペルフルオロオクタン酸、韓国人ではPBDEsの濃度が高い。こういった特徴の明らかな違いは3国における過去から現在の化学物質曝露の特徴に関連している。POPs濃度は規制されたものは過去に比べて低下してきており、乳児への影響は考えにくい、新たに検出される物質もある。従って子どもの健康のためにもヒト母乳の継続的なモニタリングが必要である。

緒言

残留性有機汚染物質 (Persistent Organic Pollutants; POPs) は環境中のいたるところに遍在し、長期間残留するとともに生物濃縮性を有する環境汚染物質である。2004年以降、POPsはストックホルム条約により世界的な問題として捉えられている。この種の化合物は鳥類、魚類、哺乳類の組織の化学分析において頻繁に検出されているが、それはヒトの脂肪組織や母乳においても同様である。ヒトが様々な経路を通じてこれら化学物質への曝露を受け得る以上、塩素系 POPs のすべてと、

臭素系 POPs のおそらく大部分について、母乳が乳児にとっての主要な曝露経路として作用している。従って、POPs汚染に関して母乳をスクリーニングすることは乳児の現在の曝露状況を把握する上で重要である。さらに POPs 汚染の時間的傾向を調査することが化学物質規制の効果を理解し、また今後どのような規制が必要になるかを決定する上でも重要となる。その際に特に重点を置くべきなのが、その時代において多量に使用されていた POPs と、その後新たに残留性が明らかになった有害物質のスクリーニングである。即ち、その当時生産量の高かった POPs、POPs 候補物質、他の残留性有毒物質のすべてについてモニタリングすることが重要である。この総説では、比較的新しい POPs について検討する。

連絡先：小泉昭夫
〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町
京都大学医学研究科環境衛生学分野
E-mail:koizumi.akio.5v@kyoto-u.ac.jp

生体異物の母体から母乳への移行

脂肪酸のような低分子量の栄養素は主に二つの経路、受動輸送と能動輸送で血管から母乳へと運ばれる(図1)。前者はATPのようなエネルギーは不要であり、濃度勾配によって起こる輸送形態である。この輸送速度は物理化学的性質に依存している。一般的には親油性であり、小さな分子ほど早く輸送される傾向がある。後者はトランスポーターによる特定の分子の輸送であり、血液から乳腺を経て母乳中へ化学物質を輸送することが知られている。

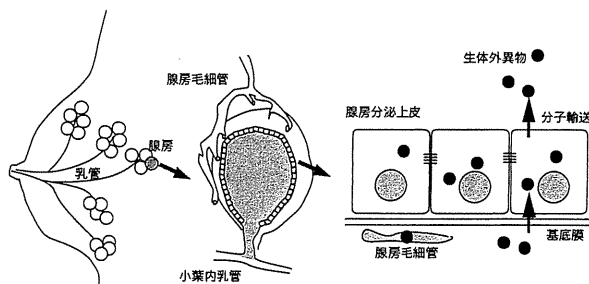


図1 乳腺での物質輸送の模式図

血液乳腺関門 (blood-breast milk barrier) と生体外異物の能動および受動輸送

一般的に免疫学的防御のために血液乳腺関門(blood-breast milk barrier)が存在することが知られている¹⁾。血液乳腺関門は同時にShennan and Peaker²⁾やAbadin et al.³⁾により化学物質や重金属などの多くの低分子物質の障壁となることが示唆されている。血液乳腺関門がどのような物質を通過させるか、あるいはさせないかについての見地はいまだ限られている。血漿中の物質濃度が平衡に達した時の、血漿中物質濃度に対する母乳中物質濃度が最も信頼性のある母乳/血漿比となることが知られている。受動輸送系の場合は母乳/血漿比は一定になるが、能動輸送系の場合血漿中濃度に依存せず輸送される。これら2つの過程は物質濃度が高い場合に区別できるが、低い場合には本質的には同じ挙動を示す。

血液乳腺関門におけるトランスポーター

乳腺上皮組織にはいくつかのトランスポーターが存在することが知られている(総説⁴⁾を参照)。これらのデータはトランスポーターの存在を示唆しているが、環境中の物質がトランスポーターによりどの程度輸送されるかについては不明確である。トランスポーターの活性を評価するには技術的に難しい側面がある。遺伝子改変マウス(例:ノックアウトマウス)はトランスポーターの生理学的な役割の検討に使われるが、遺伝子ノックアウトに対する代償的なメカニズム発動はしばし検討の妨げとなる。

血液乳腺関門における受動輸送

物質の物理化学的な特徴は血清から母乳への輸送に大きな影響をもたらす。具体的な例として、多くの類縁物質を持つ代表的なPOPsであるポリ臭素化ジフェニルエーテル(Polybrominated diphenyl ethers: PBDEs)とポリ塩素化ビフェニル(polychlorinated biphenyls: PCB)を示す。これらはよく似た炭素骨格を持ち、前者が臭素原子を含み、後者は塩素原子を含む。ハロゲン化数が低いものから高いものにかけて同族体番号が振られている(最大ハロゲン化数は10であり、#209に該当する)。ハロゲン化数の違いはその物質の分子量、官能基の数、脂溶性に違いをもたらす。図2では、上記二つの物質について血清と母乳の構成比(全重量に対する割合)を比べている。PBDE類では分子量の大きい同族体では分子量の小さいものに比べ母乳中%が低くなっている。一方PCB類ではこのような傾向は見られない。この明確な対比に対するアプローチとして定量的構造活性相関(Quantitative Structure-Activity Relationship: QSAR)を用いた解析が行われた⁵⁾。その結果、PBDE類とPCB類の母乳/血清の分配について下記の式が導き出された。:

$$\text{Log } p = 1.664 - 0.1871 \text{ ClogP} - 0.2092 \text{ HBA}$$

Log p は母乳/血清の分配係数の対数を、ClogP は Log Kw (水/オクタノール分配係数) に類似する疎水性を、HBA は水素結合受容体の数を表す。この式は低分子量で油溶性が高い物質ほど、高分子量で水素結合する物質に比べ、母乳中へ分配しやすいことを示している。要約すれば上記の式は POPs は母乳への分配について受動輸送の対象であることを強く示唆している。

日本・中国・韓国での母乳中 POPs モニタリング

1. POPs に指定される物質

残留性有機汚染物質 (Persistent organic pollutants, POPs) は化学的に安定な物質であり、環境中で分解が起こりにくい。そのため POPs は生物濃縮性を持ち、人や生態系に対する毒性を持つ。POPs は計 21 種類であり、農薬・工業原料・非意図的生産物質の三つに分類される (表 1)。

ここでは 5 つの主たる POPs、①Dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT)、②Chlordane (CHL、クロルデン)、③Hexachlorocyclohexane (HCH、ヘキサクロロシクロヘキサン)、④Hexachlorobenzene (HCB、ヘキサクロロベンゼン)、⑤polychlorinated biphenyl (PCB) の日中韓における母乳中濃度について示す。

1) 日中韓の全体傾向と個別傾向

日中韓の母乳は検出可能なレベルで DDTs, CHLs, HCHs, HCB, PCBs を含んでおり、東アジア圏に住む人々はこれらの曝露を受けている証拠となっている。三ヶ国の平均を取ると DDTs > HCHs > PCBs > HCB > CHLs の順となる。5 つの POPs の平均濃度は図 2 に示す。サンプルは、中国 (n=25, 北京 2007 年 12 月)、日本 (n=20 京都 2007 年 12 月 - 2008 年 4 月)、韓国 (n=29, ソウル 2007 年 10 月) の協力者より

母乳の提供を受け、京都大学生体試料バンク^{6,7)}に保管されているものを使用した。なおこれらの詳細なデータは公表論文⁸⁾にまとめられている。

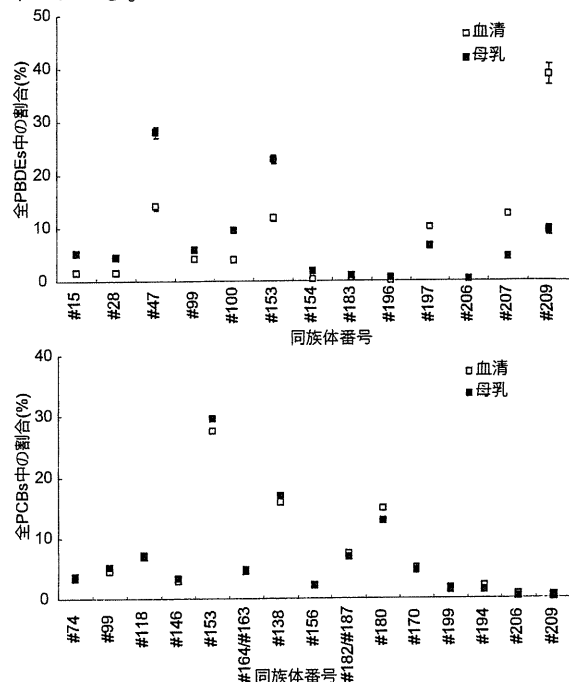


図 2 授乳開始 10 週間以内における血清中、母乳中 PBDEs・PCBs 同族体の割合

日本の母乳からそれぞれ、DDTs (平均 160 (範囲 49-550) ng/g lipid)、PCBs (110 (14-210) ng/g lipid)、HCHs (77 (31-270) ng/g lipid)、CHLs (31 (11-58) ng/g lipid)、HCB (13 (4.5-25) ng/g lipid) が検出されている。PCBs と CHLs は中韓に比べ高い濃度であった。

中国の母乳において、最も高い濃度の POPs は DDTs である (1300 (430-3000) ng/g lipid)。二番目は HCHs であり (570 (67-3000) ng/g lipid)、次いで HCB (86 (48-150) ng/g lipid) となっている。PCBs (56 (26-130) ng/g lipid) と CHLs (3.8 (1.4-11) ng/g lipid) については日韓と比べ比較的低い濃度となっている。

韓国の母乳では DDTs (180 (49-580) ng/g-lipid)、PCBs (61 (20-128) ng/g lipid)、HCHs (110 (17-830) ng/g lipid)、CHLs (14 (6.4-31) ng/g lipid)、HCB (13 (8.1-21) ng/g lipid) であった。韓国は日本と比較的近いプロファイルを示した。

表1 ストックホルム条約で指定されている残留性有機汚染物質（2012年現在）

有機塩素農薬	
ジクロロジフェニルトリクロロエタン (DDT)	殺虫剤、農薬中間体
クロルデン (CHL)	シロアリ防除剤
ヘキサクロロベンゼン (HCB)	種子などの殺菌剤
リンデン (HCH)	殺虫剤、医薬品
トキサフェン	殺虫剤、殺ダニ剤
ヘプタクロル	殺虫剤、シロアリ防除剤
エンドリン	殺虫剤、殺鼠剤
アルドリン	殺虫剤
ディルドリン	殺虫剤、シロアリ駆除、防虫加工
マイレックス	殺虫剤、シロアリ防除剤、難燃剤
ペンタクロロベンゼン	農薬中間体、難燃剤、防かび剤
工業原料	
ポリ塩素化ビフェニル (PCB)	絶縁油、熱媒体
ヘキサブロモビフェニル	プラスチック難燃剤
テトラブロモジフェニルエーテル、	プラスチック難燃剤
ペンタブロモジフェニルエーテル、	
ヘキサブロモジフェニルエーテル、	
ヘプタブロモジフェニルエーテル (PBDEs)	
ペルフルオロオクタンスルホン酸	消火剤、界面活性剤
ペルフルオロオクタンスルホニルフロリド	撥水剤原料
非意図的生成物質	
ポリ塩素化ジベンゾダイオキシン	ごみ等の焼却、塩素系農薬の副生成物
ポリ塩素化ジベンゾフラン	ごみ等の焼却、塩素系農薬の副生成物
α -ヘキサクロロシクロヘキサン	リンデン製造時の副生成物
β -ヘキサクロロシクロヘキサン	リンデン製造時の副生成物

表2 1日摂取量の推定と乳児におけるリスク評価

	推定摂取量(1日体重kgあたりのng) ^a					
	日本		韓国		中国	
	平均	TDI比(%) ^b	平均	TDI比(%) ^b	平均	TDI比(%) ^b
PFCAs合計	29.1	1.9	17.7	1.2	13.2	0.9
PBDE合計	225	0.56	555	1.39	285	0.71

^a乳児の母乳摂取量は1日750 g、体重は5 kgを仮定している。

^b1日耐用摂取量に対する割合: PFCAsでは1日体重kgあたり1500 ng、PBDEsでは1日体重kgあたり0.4 mgを採用している。

2) DDTs

DDT は殺虫剤やその原料として広く使用されている。2007-2008年の調査では、DDTsの平均濃度は中国で1300 ng/g lipidと日本(170 ng/g lipid)と韓国(180 ng/g lipid)に比べ高濃度であった。DDTsの内訳は p,p'-DDE (92-96%)、p,p'-DDT (3-5%)、p,p'-DDD (0.4-1%)であった。中国ではDDTs濃度は1983年から1998年の間に7700から2000 ng/g-lipidにまで減少したが⁹⁾、今回の調査で日韓に比べ依然7倍以上の高い値となっていることが明らかになった。DDEはDDTの分解・代謝物であり、一般的に p,p'-DDEと p,p'-DDTの濃度の比は p,p'-DDTが環境中に放出されてからの経過時間の指標となることが知られ、p,p'-DDE/p,p'-DDTが高い比率であった場合、曝露からの経過時間が長いとされる¹⁰⁾。中国北京では、1993年にはその比率は5.6であったが⁹⁾、2007年には32.9となった。これは中国北京において近年の p,p'-DDT曝露は減少していることを示唆している。最近の研究で、日中韓の母乳からジコホールが検出された¹¹⁾。ジコホールはDDTから合成されるその代替農薬としてDDT禁止後も世界中で使用されている。またジコホールは不純物としてDDTを含むことが確認されている^{12,13)}。しかしながらジコホールの母乳中濃度はDDTに比べ十分に低い濃度であり(1/100程度)、ジコホールが現在のDDT汚染の主要原因であるとは考えにくい。

3) CHL (クロルデン)

CHLsは主に農業目的に使用される殺虫剤である。CHLsのヒトの主要曝露原は食事であると考えられている。加えてCHLs日本の木造住宅のシロアリ対策に広く使用されていたことから、住環境も大きな曝露要因となる^{14,15)}。平均CHLs濃度は韓国14 ng/g lipid、中国3.8 ng/g lipidと比べ、日本人の母乳では高

濃度(31 ng/g lipid)で検出された。CHLsの中でOxychlordanとtrans-nonachlorが3ヶ国を通じてもっとも高い比率で検出されている。Oxychlordanは他のCHLsの分解物であることから、過去の使用による曝露であることが示唆される。一方trans-Nonachlorについては代謝しにくく、人体内での半減期が長い¹⁶⁾ため、現在でも検出されると思われる。日本ではCHLsの使用は1980年代に増加し、1986年に禁止された。1986年から1998年の調査では、CHLsの母乳中濃度は110から85 ng/g lipidへと減少し¹⁵⁾、今回の調査では31 ng/g lipidとさらに減少した。

4) HCHs (ヘキサクロシクロヘキサン)

γ -HCHは殺虫剤や医薬品として使用される化学物質である。今回、母乳中でのHCHsは β -HCHのみ検出された。殺虫剤として市販されるHCHsはリンデンとの別名を持ちその構成の99%が γ -HCHとなるが、ヒト体内では代謝により β -HCHとなる。このことから高い β -HCHの割合は、現在では農薬としてのHCHsの曝露を受けていないことを示している。HCHsの平均濃度は中国で最も高く(570 ng/g lipid)、次いで韓国(110 ng/g lipid)、日本(77 ng/g lipid)であった。1998年の調査では⁹⁾、中国でのHCHs濃度は1200 ng/g lipid(北京)であり、10年で半減したことを示している。しかし依然として中国のHCHs汚染はロシアと同レベルであり、日韓の約5倍の濃度である。

5) HCB (ヘキサクロロベンゼン)

HCBは種子などの殺菌剤であると共に、塩素系農薬製造の際に非意図的に生成される化学物質である。母乳中HCBの平均濃度は中国で86 ng/g lipidあり、日韓に比べ一桁高い濃度となっている。中国における1998年から2002年の調査では、HCBは大連と瀋陽でそ

れぞれ 81、56 ng/g lipid であった¹⁷⁾。このことから HCB は中国において 2002 年から現在まで減少が見られていない。HCB は中国で農薬未登録であり、非意図的に工業製品等の製造の際に生成されたと見られている¹⁰⁾。HCB は中国で茶葉のような農業製品から検出されていることから¹⁸⁾、一部で不正に農業目的での使用があるか、環境中に広く汚染が広がっていると思われる。HCB は依然ロシアで火工品等としての使用が続けられている¹⁹⁾。中国母乳中の HCB 濃度はロシアの 2003 年から 2004 年の調査に近い値(100 ng/g lipid)である²⁰⁾。日本と韓国では、HCB は低い濃度で検出された(日韓共に 13 ng/g lipid)。この結果は日韓では HCB の強い曝露源が存在しないことを示している。

6) PCBs

PCBs は 1930-1970 年代にかけて製造され、絶縁油や熱媒体として使用された。

PCB のヒトへの蓄積は周辺環境の工業化や、魚介類の摂取によると考えられる。PCB の平均濃度は日本で 110 ng/g lipid と最も高く、韓国(61 ng/g lipid)、中国(56 ng/g lipid)の順であった。PCBs の構成は 3 ヶ国共に #153 (20-28%) が最も多く、#138、#180 の順であった。中国では低塩素化 PCB(#74, #99, #118 等)が比較的高い比率で見られたが、中国の魚貝類でも低塩素化 PCB 類が高く見られることから^{21,22)}、食品経由の摂取が疑われる。

2. 新規 POPs

先に述べたように、2004 年のストックホルム条約では 12 種の塩素化合物が指定された。これらは商業製品、工業製品において使用されるおびただしい量の化学物質のほんの一握りでしかない。高残留性高生物濃縮性 (very persistent and very bioaccumulative; vPvB) 化学物質に対して、これまでその分解性と生物

濃縮性に基づいてスクリーニングが行われてきた。新規 POPs には塩素系農薬だけでなく、難燃材や界面活性剤といった臭素およびフッ素化合物も存在する。これらの化学物質の用途にはその工法や特許により実に様々な合成法があり、そのために排出国における汚染源の特徴がある。ここでは東アジア諸国における母乳中の新規 POPs および候補物質の特徴について概説する。

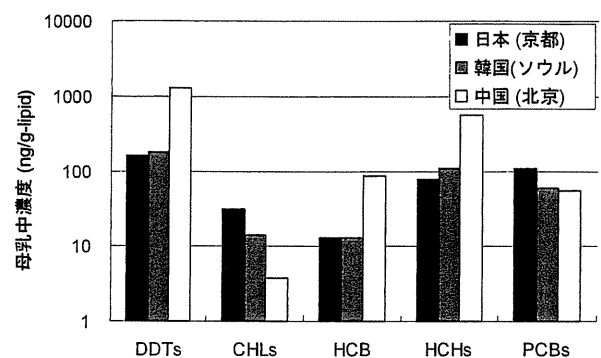


図 3 東アジア 3 国における古典的 POPs5 物質の比較

1) 臭素化合物

この種の化合物は PCBs の代用として難燃材に使用されてきた。1970 年代以降、経済成長に伴って家庭用電気器具が増加するにつれて火災の発生件数も増加したことを受けて難燃剤の開発が始まり、現在利用されているような様々な難燃剤が生産されるようになった。臭素系難燃素材は安定な臭素原子を含み、火災において燃焼を助長するラジカル種を補足して樹脂の燃焼を抑制する。PBDEs は臭素化ダイオキシンの不純物を含む、あるいは焼却により発生させる可能性があると考えられている。

臭素系難燃剤は住宅、電気製品、回路基盤、布地に使用されている。1995 年、臭素系難燃剤の製造業者は自主規制を開始した。PBDEs の congener のうち、比較的毒性の高い 5 臭素化 PBDE(pentabromodiphenylether) および PCBs と構造の似たポリ臭素化ビフェニル

(polybrominated biphenyls)の生産を停止した。現在これらはストックホルム条約の Annex A に指定されている。10 臭素化 PBDE(Decabromodiphenylether)は低リスクであるとして現在まで使用されてきた。

PBDEs は PCBs と同様、結合する臭素原子の個数と置換位置の違いにより 209 種の congener から成る。これらの物理化学特性は臭素置換の個数により大きく異なる。鯉を使った生物濃縮試験によると、生物濃度係数が 5 臭素化 PBDE では 11700-1650 であるのに対して、10 臭素化 PBDE では 50 以下である。10 臭素化 PBD は octanol-water 分配係数が高い（油に溶けやすい）にもかかわらず、生物中濃度は他の POPs のように高くはない。SD ラットに対する投与実験によると、10 臭素化 PBD の経口吸収率は比較的 low、約 10% である²³⁾。

生後 3 日から 19 日のオスのマウスに対する 10 臭素化 PBD の経口投与では、投与量 20.1 mg/kg において行動異常が観察された²⁴⁾。一方、5 臭素化 PBDE では投与量 0.8 mg/kg 以上で行動に影響が表れることから、置換臭素の多い PBDEs よりも毒性が強いことが示唆される²⁵⁾。

日本における成人女性の血清調査では、PBDEs 濃度の幾何平均値は 1980 年代で 0.5 ng/g lipid、1990 年代で 1.8 ng/g lipid であった⁶⁾。2005 年の日本での乳児の母親の血清中 PBDEs 濃度の幾何平均値は 2.9 ng/g lipid で、職業曝露を受ける集団よりは比較的 low 値であったが、時代とともに増加傾向にあった⁵⁾。母乳試料においては 4 臭素化 PBDE が最も多く、次いで 6 臭素化 PBDE の同族体が多かった。10 臭素化 PBD の占める割合は約 10% であった。

母乳中 PBDEs 濃度を 2008 年に東アジアの国ごとに比較した⁸⁾ (図 4)。母乳中 PBDEs 濃度の平均値は韓国で最も高く (3.7 ng/g

lipid)、中国 (1.9 ng/g lipid)、日本 (1.5 ng/g lipid)、ベトナム (0.42 ng/g lipid) の順であった。韓国では PBDEs 濃度のばらつきが大きい (0.82-24 ng/g lipid) ことから、PBDEs に対してはまだ高い曝露を受けている集団が一部残っていることが示唆される。日本での調査結果では、PBDEs 濃度の近年一定である。中国北京での調査では、母乳中 PBDEs 濃度は 2008 年の結果 (1.9 ng/g lipid) は 2005 年 (1.2 ng/g lipid) より高く、曝露レベルの増加傾向によるものである可能性がある。東アジアにおける母乳中 PBDEs 濃度は、欧米諸国、特に米国と比較すれば低い。PBDE congener の測定法が様々であるとはいえ、曝露レベルには地域により差があると言える。

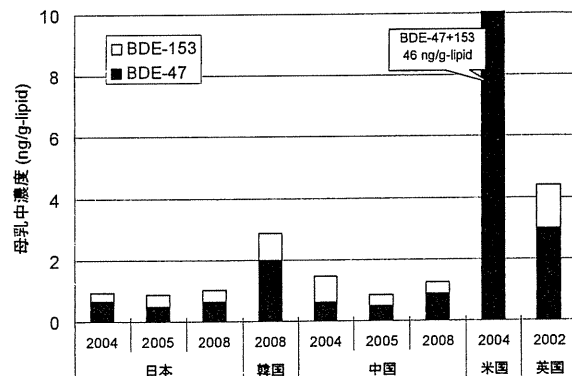


図 4 母乳中 PBDEs 濃度の各国間での比較

2) フッ素化合物

過フッ素化合物 (perfluorinated compounds; PFCs) は多くのグループが存在する人工化合物であり、フッ素で置換した炭素鎖から成る。60 年以上にわたって生産が続けられ、食品梱包材、布地、カーペット、紙類の保護膜、フッ素樹脂製造用界面活性剤などの様々な工業、商品関連用途に利用されてきた。この十年間、ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS)、ペルフルオロオクタン酸 (PFOA) といった PFCs が肝臓や組織など様々な生体試料中に見つかっており、特にヒトの血液や母乳では世界各地で検出されている²⁶⁾。

ラットやマウスにおいて PFCs が発生・発達に影響することが観察されており、これには仔の肝臓重量の増加、成長や発達の遅れといったものがある。また、PFOS および PFOA が児の発達に影響を与えることを示唆する疫学研究がいくつかある²⁷⁾。炭素鎖 8 の PFOA より長鎖の過フッ素カルボン酸 (PFCA) はより生物濃縮性を有する。炭素鎖 9 の PFCA (PFNA) と炭素鎖 11 の PFCA (PFUnDA) の 2000 年の排出量はそれぞれ 25 トン、7 トンであり²⁸⁾、主要な排出源は東アジアである。これらの化合物はこれまでに野生生物試料から検出されている。

これらの PFCA について、東アジアでの 2008 年から 2010 年の母乳試料を調べた²⁹⁾(図 5)。PFCA のなかでも PFOA が割合が高く、アジア 3 国すべてにおいて試料の 60% 以上から検出された。PFOA 濃度の中央値は日本で最も高く (89 pg/mL)、次いで韓国 (62 pg/mL)、中国 (51 pg/mL) の順であった。PFNA および PFUnDA 濃度も日中韓で検出され、それぞれ日本 (中央値 31 pg/mL、35 pg/mL)、韓国 (中央値 15 pg/mL、19 pg/mL)、中国 (中央値 15 pg/mL、15 pg/mL) であった。興味深いことに、韓国では炭素鎖 13 の PFCA (PFTrDA) が母乳試料の半数に検出可能なレベルで含まれており、3 国の中では最も高かった (中央値 10 pg/mL)。日本、韓国、中国で、母乳試料中の PFCA 全体において PFOA の占める割合はそれぞれ 48%、54%、61% であった。日本、中国の人工乳も調べたところ PFOA、PFNA、PFDA、PFUnDA が両国で検出され、それぞれ日本で 21.8、21.6、10.1、10.1 pg/mL、中国で 28.1、22.4、11.1、< 5 pg/mL であったが、日中間で有意な差はなかった²⁹⁾。日本、中国の人工乳試料中の PFOA 濃度は母乳試料中濃度より低く、それぞれ 4 分の 1、2 分の 1 の値であった。

母乳中 PFCA 濃度に関する文献は限られ

たものしかない。これまで東アジアと欧米諸国では PFOA 濃度に明確な差は見られなかった。PFOA 以外の PFCA の分析については技術的に困難なため行われてこなかった。そのため母乳中の PFCA 全体の量と詳細は不明なままであった。将来的に分析手法が発達すれば、様々な国のヒト母乳における PFCA 曝露についての特徴の違いが明らかになるであろう。

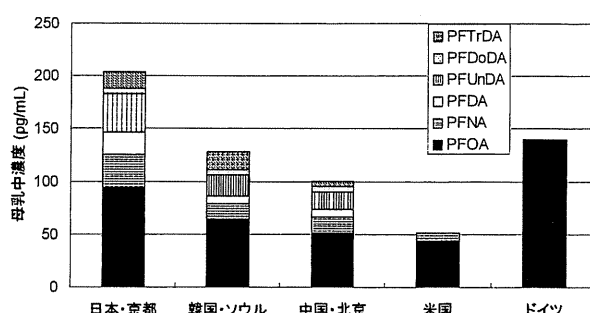


図 5 母乳中 PFCA 濃度の各国間での比較

IV. 乳児のためのヒト母乳中化学物質のリスク評価

通常、食料によるリスクを表現するには耐容一日摂取量 (tolerable daily intake; TDI) と曝露マージン (margin of exposure; MOE) という二つの変数を用いる。TDI とはヒト集団にとって、実質的な健康リスクにつながることはない一日曝露量の、不確実性を考慮した推定量である。MOE は現在の曝露量が基準値よりどれだけ小さいかを表す倍率である。即ち、 $MOE = TDI / \text{曝露量}$ 。MOE < 100 ならば更なるリスク評価が必要である。同様に、この二つの変数を使えば乳児のための母乳中化学物質のリスクを表現することができる。

乳児の標準母乳消費量³⁰⁾ (体重 5 kg で 750 g day^{-1}) に基づいて、汚染物質の一日摂取量の推定値の検討を行った。母乳中化学物質については、これまで限られたデータしか利用できなかった。欧州食品安全機関の 2008 年の計算によると、PFOA の TDI は $1500 \text{ ng kg body weight}^{-1} \text{ day}^{-1}$ となっている。東アジアにおける

ヒト集団のPFCA_s摂取量の計算値はこのTDIの2%以下である(平均値0.9-1.9%)。同様の手法を用いてPBDE_s曝露量を評価した。PBDE_s全体の推定摂取量は5臭素化PBDEのTDI(0.4 mg/kg body weight/day)の1%程度であり、このことから母乳によるPBDE_sの健康リスクは低いと言える。

V. 結論

POPsはその親油性、残留性、生物濃縮性のため、従来からのものも新規のものも、母乳を通じて母親から乳児に容易に伝達される。東アジアの国々のヒト母乳に含まれるPOPsの特徴から、POPsの用途、製造過程や汚染源についての経年的推移を明らかにすることができる。例えば、中国人の母乳ではDDTやHCB濃度が高いが、日本人ではCHL、韓国人ではPBDE_sの濃度が高い。こういった特徴の明らかな違いは3国における過去から現在の化学物質曝露の特徴に関連しているのである。この意味で母乳のモニタリングからは非常に多くの情報を得ることができる。さらに、母乳は乳児にとって主要なエネルギー源であり栄養源である。母乳中の化学物質が乳児の発達や健康に悪影響を及ぼすことも考えられる。従って子どもの健康のためにもヒト母乳の継続的なモニタリングが必要なのである。

母乳モニタリングが重要であるにもかかわらず、これまで得られたデータは決して多くはない。適切なモニタリング計画を推進するためには、3つの分野を強化する必要がある。第一に、母乳と血漿中の濃度比の正確な予測、第二に分析手法の進歩、第三が大規模なヒト母乳バンクである。

謝辞

モニタリングのための母乳試料の収集にご協力いただいた、東北公済病院の上原茂樹先

生、日本赤十字社医療センターの杉本充弘先生、富山県立中央病院の中野隆先生、サン・クリニックの山縣威日先生、井上産科婦人科医院の井上哲朗先生、京都府助産師会助産所部会の桶谷秀子様、木村泰恵様、左古かず子様、新開幸代様、長尾早枝子様、永田理恵様、藤井智子様、堀口君子様、吉川敏子様、関係者各位に心より感謝申し上げます。

1. Guidry AJ, O'Brien CN, Douglass LW, A bovine mammary endothelial/epithelial cell culture model of the blood/milk barrier. *Can J Vet Res*, 1998; 62: 117-121
2. Shennan DB, Peaker M, Transport of milk constituents by the mammary gland. *Physiol Rev*, 2000; 80: 925-951
3. Abadin HG, Hibbs BF, Pohl HR, Breast-feeding exposure of infants to cadmium, lead, and mercury: a public health viewpoint. *Toxicol Ind Health*, 1997; 13: 495-517
4. Dabeka RW, Karpinski KF, McKenzie AD, *et al.*, Survey of lead, cadmium and fluoride in human milk and correlation of levels with environmental and food factors. *Food Chem Toxicol*, 1986; 24: 913-921
5. Inoue K, Harada K, Takenaka K, *et al.*, Levels and concentration ratios of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in serum and breast milk in Japanese mothers. *Environ Health Perspect*, 2006; 114: 1179-1185
6. Koizumi A, Yoshinaga T, Harada K, *et al.*, Assessment of human exposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in Japan using archived samples from the early 1980s and mid-1990s. [10.1016/j.envres.2004.12.002](https://doi.org/10.1016/j.envres.2004.12.002)|[10.1016/j.envres.2004.12.002](https://doi.org/10.1016/j.envres.2004.12.002). *Environmental Research*, 2005; 99: 31-39
7. Koizumi A, Harada KH, Inoue K, *et al.*, Past,

- present, and future of environmental specimen banks.
10.1007/s12199-009-0101-1. *Environ Health Prev Med*, 2009; 14: 307-318
8. Haraguchi K, Koizumi A, Inoue K, *et al.*, Levels and regional trends of persistent organochlorines and polybrominated diphenyl ethers in Asian breast milk demonstrate POPs signatures unique to individual countries. *Environ Int*, 2009; 35: 1072-1079
9. Yu H, Zhao X, Zhao J, *et al.*, Continuous surveillance of organochlorine pesticides in human milk from 1983 to 1998 in Beijing, China
10.1080/09603120500397615|10.1080/09603120500397615. *International Journal of Environmental Health Research*, 2006; 16: 21-26
10. Wong M, Leung A, Chan J, *et al.*, A review on the usage of POP pesticides in China, with emphasis on DDT loadings in human milk
10.1016/j.chemosphere.2005.04.028|10.1016/j.chemosphere.2005.04.028. *Chemosphere*, 2005; 60: 740-752
11. Fujii Y, Haraguchi K, Harada KH, *et al.*, Detection of dicofol and related pesticides in human breast milk from China, Korea and Japan. *Chemosphere*, 2011; 82: 25-31
12. Qiu X, Zhu T, Yao B, *et al.*, Contribution of dicofol to the current DDT pollution in China
10.1021/es050342a|10.1021/es050342a. *Environmental Science & Technology*, 2005; 39: 4385-4390
13. Turgut C, Gokbulut C, Cutright T, Contents and sources of DDT impurities in dicofol formulations in Turkey
10.1007/s11356-008-0083-3|10.1007/s11356-008-0083-3. *Environmental Science and Pollution Research*, 2009; 16: 214-217
14. Taguchi S, Yakushiji T, Influence of Termite Treatment in the Home on the Chlordane Concentration in Human Milk. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1988; 17: 65-71
15. Konishi Y, Kuwabara K, Hori S, Continuous surveillance of organochlorine compounds in human breast milk from 1972 to 1998 in Osaka, Japan. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2001; 40: 571-578
16. Tashiro S, Matsumura F, Metabolic routes of cis- and trans-chlordane in rats.
10.1021/jf60212a067. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1977; 25: 872-880
17. Kunisue T, Someya M, Kayama F, *et al.*, Persistent organochlorines in human breast milk collected from primiparae in Dalian and Shenyang, China
10.1016/j.envpol.2004.03.008|10.1016/j.envpol.2004.03.008. *Environmental Pollution*, 2004; 131: 381-392
18. Nakata H, Nasu T, Abe S, *et al.*, Organochlorine contaminants in human adipose tissues from China: Mass balance approach for estimating historical Chinese exposure to DDTs
10.1021/es050493d|10.1021/es050493d. *Environmental Science & Technology*, 2005; 39: 4714-4720
19. Barber J, Sweetman A, van Wijk D, *et al.*, Hexachlorobenzene in the global environment: Emissions, levels, distribution, trends and processes
10.1016/j.scitotenv.2005.03.014|10.1016/j.scitotenv.2005.03.014. *Science of the Total Environment*, 2005; 349: 1-44
20. Tsydenova O, Sudaryanto A, Kajiwara N, *et al.*, Organohalogen compounds in human breast milk from Republic of Buryatia, Russia
10.1016/j.envpol.2006.04.036|10.1016/j.envpol.2006.04.036. *Environmental Pollution*, 2007; 146: 225-232

21. Mai B, Zeng E, Luo X, *et al.*, Abundances, depositional fluxes, and homologue patterns of polychlorinated biphenyls in dated sediment cores from the Pearl River Delta, China
10.1021/es049015d. *Environmental Science & Technology*, 2005; 39: 49-56
22. Yang Z, Shen Z, Gao F, *et al.*, Occurrence and possible sources of polychlorinated biphenyls in surface sediments from the Wuhan reach of the Yangtze River, China
10.1016/j.chemosphere.2008.11.024. *Chemosphere*, 2009; 74: 1522-1530
23. Morck A, Hakk H, Orn U, *et al.*, Decabromodiphenyl ether in the rat: absorption, distribution, metabolism, and excretion. *Drug Metab Dispos*, 2003; 31: 900-907
24. Viberg H, Fredriksson A, Jakobsson E, *et al.*, Neurobehavioral derangements in adult mice receiving decabrominated diphenyl ether (PBDE 209) during a defined period of neonatal brain development. *Toxicol Sci*, 2003; 76: 112-120
25. Viberg H, Fredriksson A, Eriksson P, Investigations of strain and/or gender differences in developmental neurotoxic effects of polybrominated diphenyl ethers in mice. *Toxicol Sci*, 2004; 81: 344-353
26. Fromme H, Tittlemier SA, Volkel W, *et al.*, Perfluorinated compounds--exposure assessment for the general population in Western countries. *Int J Hyg Environ Health*, 2009; 212: 239-270
27. Steenland K, Fletcher T, Savitz DA, Epidemiologic evidence on the health effects of perfluorooctanoic acid (PFOA). *Environ Health Perspect*, 2010; 118: 1100-1108
28. Prevedouros K, Cousins IT, Buck RC, *et al.*, Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environ Sci Technol*, 2006; 40: 32-44
29. Fujii Y, Yan J, Harada KH, *et al.*, Levels and profiles of long-chain perfluorinated carboxylic acids in human breast milk and infant formulas in East Asia. *Chemosphere*, 2012; 86: 315-321
30. Van Oostdam J, Gilman A, Dewailly E, *et al.*, Human health implications of environmental contaminants in Arctic Canada: a review. *Sci Total Environ*, 1999; 230: 1-82

Biological monitoring of persistent organic pollutants using breast milk

Akio Koizumi, Yukiko Fujii, Tamon Niisoe, Kouji Harada

**Department of Health and Environmental Sciences, Kyoto University
Graduate School of Medicine, Yoshida, Kyoto 606-8501, Japan**

Persistent Organic Pollutants (POPs) are ubiquitous and persistent environmental contaminants that bioaccumulate in biota. The screening of POPs contamination in milk is important to assess current exposure in infants. Since POPs are lipophilic and small molecules, they tend to be transported from blood vessels to breast milk via passive transport pathway. Human breast milks in east Asian countries showed unique POPs profiles. Concentrations of DDT and hexachlorobenzene are very high in breast milks of Chinese mothers while chlordanes, polychlorobiphenyls and perfluorooctanoic acid are high in breast milk of Japanese mothers and polybrominated diphenyl ethers in breast milks of Korean mothers. Those salient differences of profiles are associated with the past and current exposure profiles of chemicals in the three countries. Levels of classical POPs, which have been regulated, are decreasing in human breast milk and health risk in infants is unlikely. However, there have been large numbers of emerging new classes of POPs and detected in recent studies, warranting continuous monitoring of chemicals in human breast milk for child health.

Key words : breast milk, persistent organic pollutants, monitoring, East Asia, human specimen bank