

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

(2) 生体試料バンクの保存試料を使用した食事経由のPFCAs摂取量と血清中濃度の動向調査

研究代表者 小泉 昭夫 京都大学医学研究科・教授  
研究協力者 藤井 由希子 京都大学医学研究科・大学院生

研究要旨

難分解性の有機フッ素化学物質であるペルフルオロアルキルカルボン酸類 (PFCAs) は撥水加工剤製造等に広く使用されてきた化学物質であるが、ヒト生体試料中から広く検出され広範囲の汚染が懸念されている。本研究では日本におけるその汚染実態を明らかにすることを目的に、2000年前後の食事中、血清中のPFCAs (炭素数8から14まで)の測定を関西・東北地域の試料を用いて行った。関西における食品経由のPFCAs総摂取量 (C8からC14の合計、幾何平均値) は79 ng/day、東北におけるPFCAsの総摂取量 (C8からC14の合計、幾何平均値) は45 ng/dayであった。総PFCAs摂取量は最大値でもPFOA (炭素鎖8)の耐容一日摂取量より低い値であった (TDIの0.1%)。血清中濃度は、C8においては3割から9割が食事由来であると推測された。食事由来の摂取量と一致しない部分については、近年PFCAsを高濃度に含有する化粧品・日焼け止め等の消費者製品の存在も報告されており、それらによる汚染を受けている可能性も考えられる。

A. 研究目的

有機フッ素化合物のペルフルオロアルキルカルボン酸類 (PFCAs) は全ての水素原子がフッ素原子に置換した炭素鎖 ( $\text{CF}_3$  ( $\text{CF}_2$ ) $_n$ -: ペルフルオロアルキル鎖/Rf基) を持つ化学物質である。このRf基は環境中、生体中で分解不可能でありその多くは最終的にカルボン酸、スルホン酸となり安定化し環境中に残留する。カルボン酸の炭素鎖8のものはPFOA (C8) と呼ばれフッ素樹脂合成や界面活性剤として大量に使用され、また疫学研究で

は出生体重の低下が報告されており、そのヒトへの健康影響が懸念されている (Apelberg et al., 2007, Fei et al., 2007)。

PFCAsの血清中濃度の経年変化についてはいくつかの先行研究で、2000年前後からの増加が見られている (Calafat et al. 2007; Harada et al. 2011) (Glynn et al. 2012)。また最近、ドイツにおいて1982年からの血清中PFCAsの長期動向が明らかにされ、長鎖PFCAs (炭素鎖9, 炭素鎖11) の1990年前後における一時的な増加が報告された (Yeung et al. 2013)。

現在まで PFCA のヒトへの曝露源は不明な点が多いが、食事が主な曝露源とされている報告もあり (D'Hollander et al. 2010)、曝露管理の視点から食事の PFCA の長期動向の把握は重要である。しかしながらその分析法は煩雑であり (Kärman et al., 2009; Vestergren et al., 2012)、食事中 PFCA の長期動向を報告した研究はまだない。

本研究では日本における PFCA の血清中濃度の動向に加え、食事経路の摂取量の動向も明らかにすることを目的に、新規の分析法 (平成 23 年度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) の「食事試料中の PFCA 分析法の確立」にて報告) を利用し、2000 年前後の食事試料と血清試料中に含まれる PFCA の測定を行った。

## B. 研究方法

### 1) 対象物質

調査対象物質は、PFOA (C8)、perfluorononanoic acid (PFNA; C9)、perfluorodecanoic acid (PFDA; C10)、perfluoroundecanoic acid (PFUnDA; C11)、perfluorododecanoic acid (PFDoDA; C12)、perfluorotridecanoic acid (PFTrDA; C13)、および perfluorotetradecanoic acid (PFTeDA; C14) の 9 化合物とした。

### 2) 対象集団

京都大学生体試料バンクの保存試料を使用した。対象集団の詳細は Table 1 に示す。陰膳食事試料は東北地域 (宮城) は 2004 年、関西地域 (京都) は 2003-2004 年に採取された各 16-18 試料の分析を行った。血清試料は東北地域 (宮城) 2003 年、関西地域

(京都) で 2004-2005 年に採取された各 30 試料の分析を行った。また対象者は全て女性とした。

### 3) 分析方法

食事試料は約 1g、血清試料は 0.1mL をそれぞれを分注し分析用試料とした。分注後、<sup>13</sup>C 標識の C8、C9、C10、C11、C12 の内部標準、*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) 0.3 mL、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、上清を量り取った。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、1 ng 11H-PFUnDA 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。

GC/MS (Agilent 6890GC/ 5973 MSD, Agilent Technologies Japan, Ltd., Tokyo, Japan) を用いて測定した。DB-5MS (全長 30m、内径 0.25mm、膜厚 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 とした。昇温条件は 70 で 2 分保持後、100 まで 20 /min、280 まで 30 /min で昇温した。Table 2 に示すイオンを測定した。

### 4) 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 にて設定を行った。操作ブランクには Milli-Q water を使用した (計 8)。ブランク値が検出された場合は、ブランク値の平均に、標準偏差の 3 倍

の値を加えた数値を Method detection limit (MDL) として扱った。回収率は血清試料に500pg、食事試料に50pgの各標準物質を、抽出前のサンプルに添加し、抽出後に添加した11H-PFUnDAと比較することで確認を行った (Table 2)。

## C. 研究結果

### 1) 食事経由のPFCAs摂取量

食事試料の添加回収試験の結果はC8、C9、C10、C11、C12、C13、C14について、それぞれ72±11%、73±15%、79±7%、83±5%、91±11%、89±12%、104±20%であった (Table 2)。PFCAsの一日摂取量(ng/day)をTable 3に示す。

**関西地方：** 関西におけるPFCAsの総摂取量 (C8からC14の合計、幾何平均値) は2003-2004年、79 ng/dayであった (Table 3)。

**東北地方：** 東北におけるPFCAsの総摂取量 (C8からC14の合計、幾何平均値) は2004年、45 ng/dayであった (Table 3)。コンジェナー毎に見ると、C11が最も摂取量が高かった。

### 2) 血清中PFCAs濃度

血清試料の添加回収試験の結果はC8、C9、C10、C11、C12、C13、C14について、それぞれ87±12%、94±8%、87±6%、95±7%、96±5%、99±6%、106±7%であった (Table 2)。血清中のPFCAs濃度の測定結果はTable 4に示す。

**関西地方：** 関西における血清中PFCAs濃度 (C8からC14の合計、幾何平均値) は2004-2005年、10.2 ng/mLであった。コンジェナー毎に見ると、C8が最も高く、続いてC9であった。C8が全PFCAsの内の半分以上を占め

ていた。

**東北地方：** 東北における血清中PFCAs濃度 (C8からC14の合計、幾何平均値) は2003年、5.9 ng/mLであった。コンジェナー毎に見ると、関西と同様にC8が最も高かったが、続いて高いのは関西とは異なりC11であった。

## D. 考察

### 1) 耐容一日摂取量との比較

本研究では、食事中PFCAs濃度を測定し、摂取量を計算した。全食事サンプルの分析を通じ、最大のTotal PFCAs摂取量は407.6 ng/day (内PFOA ; 72.1 ng/day) であった (京都の採取試料)。2014年現在まで長鎖を含むPFCAsの体重あたりの耐容一日摂取量 (TDI) は現在まで設定されていないが、PFOAについては欧州食品安全機関 (EFSA) により1500ng/kg-体重/dayと設定されている。体重を50kgと仮定すると、今回のPFOAの分析値はTDIの0.1%以下であり、十分に下回る結果であった。

### 2) 食事由来のPFCAs摂取量と、血清中濃度との関連

食事経由の曝露量と血中濃度を関連付けるには体内動態を考慮する必要がある。先行研究により、分布容積、半減期等が明らかにされているC8を例にとると、食品より摂取されたPFCAs量から計算される血清中濃度は以下ようになる。C8の分布容積は200mL/kg (Niisoe et al. 2010)、半減期は3.8年 (Olsen et al. 2007) であり、また腸管での吸収率が高いと考えられている (Loccisano et al. 2012)。これらを考慮すると、体重50kgと仮定し、1-コンパートメントモデルで評価 (Niisoe et al., 2010) した場合、食品経

由のPFCAs総摂取量（C8からC14の合計、幾何平均値）から血中濃度を求めると、関西で2.9ng/mLであり、東北では0.7ng/mLであった。この値はTable 4の実際の血清中のC8の測定値と近く、血清中のC8は3割から9割が食事由来であると推測できる。近年PFCAsを高濃度に含有する化粧品・日焼け止め等の消費者製品の存在も報告されており(Fujii et al. 2013)、それらによる汚染を受けている可能性も考えられる。今後は生活様式等を含めた解析を行う必要がある。

## E . 結論

本研究では京都大学生体試料バンクの保存試料を使用し、食事試料と血清試料中に含まれるPFCAsの測定を行い、日本におけるPFCAsの食事を通じた摂取量と血清中濃度の動向を明らかにした。その結果、総PFCAs 摂取量は最大値でもPFOAの耐容一日摂取量より十分に低い値であった。C8においては、血清中濃度の3割から9割が食事由来であると推測された。

## 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

第84回日本衛生学会学術総会  
(2014年5月25-27日 岡山)

## 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.

Calafat AM, Wong LY, Kuklennyik Z, Reidy JA, Needham LL. 2007. Polyfluoroalkyl chemicals in the us population: Data from the national health and nutrition examination survey (nhanes) 2003-2004 and comparisons with nhanes 1999-2000. *Environmental Health Perspectives* 115:1596-1602.

D'Hollander W, de Voogt P, De Coen W, Bervoets L. 2010. Perfluorinated substances in human food and other sources of human exposure. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol 208 208:179-215.

Fujii Y, Harada KH, Koizumi A. 2013. Occurrence of perfluorinated carboxylic acids (pfcas) in personal care products and compounding agents. *Chemosphere* 93:538-544.

Glynn A, Berger U, Bignert A, Ullah S, Aune M, Lignell S, et al. 2012. Perfluorinated alkyl acids in blood serum from primiparous women in sweden: Serial sampling during pregnancy and nursing, and temporal trends 1996-2010. *Environmental Science & Technology* 46:9071-9079.

Harada KH, Hitomi T, Niisoe T, Takanaka K, Kamiyama S, Watanabe T, et al. 2011. Odd-numbered

perfluorocarboxylates predominate over perfluorooctanoic acid in serum samples from japan, korea and vietnam. *Environment International* 37:1183-1189.

Kärman 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.

Loccisano AE, Campbell JL, Jr., Butenhoff JL, Andersen ME, Clewell HJ, 3rd. 2012. Comparison and evaluation of pharmacokinetics of pfoa and pfos in the adult rat using a physiologically based pharmacokinetic model. *Reproductive toxicology* 33:452-467.

Niisoe T, Harada KH, Ishikawa H, Koizumi A. 2010. Long-term simulation of human exposure to atmospheric perfluorooctanoic acid (pfoa) and perfluorooctanoate (pfo) in the osaka urban area, japan. *Environ Sci Technol* 44:7852-7857.

Olsen GW, Burris JM, Ehresman DJ, Froehlich JW, Seacat AM, Butenhoff JL, et al. 2007. Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ Health Perspect* 115:1298-1305.

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*

Yeung LW, Robinson SJ, Koschorreck J, Mabury SA. 2013. Part i. A temporal study of pfcas and their precursors in human plasma from two german cities 1982-2009. *Environ Sci Technol* 47:3865-3874.

Table1 Study area and study population

Sample type	Study Area	Year	City	N (All females)	Age	
					Mean (SD)	Range
Diet	Kansai	2003, 2004	Kyoto	18	51.8 (21.1)	21-76
	Tohoku	2004	Miyagi	16	21.5 (0.5)	21-22
Serum	Kansai	2004, 2005	Kyoto, Wakayama	30	37.7 (11.9)	24-63
	Tohoku	2003	Miyagi	30	45.2 (8.6)	30-59

Table 2

Recoveries and method detection limits for PFCAs analysis of serum and diet

Compound (carbon atoms)	Quantification ions (confirmation ions) m/z	Instrument detection limit <sup>a</sup> (pg) (S/N=3)	Recovery of PFCAs <sup>b</sup> % (SD%)		Procedural blank (SD) (pg, n=8)
			Serum (500ng spiked, n=6)	Diet (50pg spiked, n=6)	
PFOA (C8)	413 (394)	0.003	87(12)	72(11)	1.2(0.4)
PFNA (C9)	463 (444)	0.003	94(8)	73(15)	1.4(0.9)
PFDA (C10)	513 (494)	0.004	87(6)	79(7)	1.1(0.3)
PFUnDA (C11)	563 (544)	0.004	95(7)	83(5)	1.3(0.4)
PFDoDA (C12)	613 (594)	0.005	96(5)	91(11)	n.d.
PFTTrDA (C13)	663 (644)	0.005	99(6)	89(12)	n.d.
PFTeDA (C14)	713 (694)	0.007	106(7)	104(20)	n.d.

SD: relative standard deviation

<sup>a</sup> 1 µL injection<sup>b</sup> All native PFCAs were spiked into samples before extraction.

Table 3

Dietary intake of PFCAs from composite food samples (ng day<sup>-1</sup>)

Area	Year (No. of pooled diets)	City		ng day <sup>-1</sup>							Total (C8-C14)
				PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTTrDA (C13)	PFTeDA (C14)	
Kansai	2003-2004 (n=18)	Kyoto	% of detection	100	78	61	83	56	78	39	-
			Median (Range)	16.4(2.3-72.1)	6.3(0.4-32.2)	2.8(0.7-34.4)	17.0(2.1-203.6)	1.5(0.4-40.0)	13.6(0.4-105.2)	0.8(0.4-27.4)	59.8(16.9-407.6)
			Mean±SD	18.9±16.3	7.8±8.3	7.5±10.2	50.1±67.0	9.1±12.6	26.1±31.8	7.8±9.9	127.2±129.1
			GM	14.6	3.9	3.2	20.5	2.4	8.3	2.3	78.9
Tohoku	2004 (n=16)	Miyagi	% of detection	81	88	94	88	38	75	0	-
			Median (Range)	5.2(0.4-14.4)	7.5(0.4-18.6)	4.4(0.8-7.9)	14.1(2.3-41.3)	0.6(0.3-73.1)	4.3(0.4-28.4)	-	39.7(24.0-107.2)
			Mean±SD	5.7±4.5	8.2±5.1	4.6±1.9	16.3±11.6	6.8±18.0	7.3±8.0	-	49.7±26.0
			GM	3.5	5.8	4.1	12.5	1.5	3.7	-	44.6

SD: standard deviation; GM: geometric mean;

Concentrations lower than the detection limits were given a value of half the detection limit for statistical analyses.

Table 4

Concentration of PFCAs in serum samples (pg ml<sup>-1</sup>)

Area	Year (No. of pooled diets)	City		ng day <sup>-1</sup>							Total (C8-C14)
				PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTTrDA (C13)	PFTeDA (C14)	
Kansai	2004-2005 (n=30)	Kyoto	% of detection	100	100	100	100	90	100	37	-
			Median (Range)	5051(2153-35337)	1864(571-9701)	609(178-3603)	1337(224-9040)	96(0-1401)	197(59-1045)	0(0.0-142)	9157(3655-56371)
			Mean±SD	7051±6325	2430±2197	854±730	1697±1590	157±246	214±188	29±48	12431±10447
			GM	5694	1899	697	1379	67	180	3	10212
Tohoku	2003 (n=30)	Miyagi	% of detection	100	100	100	100	100	100	7	-
			Median (Range)	2523(1147-5858)	1114(396-2631)	421(191-767)	1418(748-3108)	93(13-231)	203(103-536)	0.0(0.0-137.0)	6017(3306-11129)
			Mean±SD	2703±1115	1178±434	443±131	1598±622	107±57	246±123	7.0±27.0	6283±1905
			GM	2499	1103	424	1490	90	220	1.0	5992

SD: standard deviation; GM: geometric mean;

Concentrations lower than the detection limits were given a value of half the detection limit for statistical analyses.