

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

汚染が懸念される物質のモニタリング

(2) 日本人母乳中の臭素系難燃剤HBCDs, 2,4,6-TBP, TBBP-Aの汚染実態の
解明

研究分担者 原口 浩一 第一薬科大学薬学部・教授
研究協力者 藤井 由希子 第一薬科大学薬学部・助教

近年、有機ハロゲン物質のリスクアセスメントの一環として臭素系難燃剤 (brominated flame retardants :BFR) のヒトへの曝露評価が注目されている。本研究では BFR の中でヘキサブロモシクロドデカン類 (HBCDs)、トリブロモフェノール (2,4,6-TBP)、テトラブロモビスフェノール A (TBBP-A) に焦点を当て、母乳分析によりヒト曝露実態の解明を行なった。日本の 6 地域で採取された母乳 64 検体について LC/MS/MS による定量を行なった結果、HBCDs 濃度の幾何平均は、 α -HBCD で 2.21 ng/g-lipid、 β -HBCD で 0.19 ng/g-lipid、 γ -HBCD で 0.29 ng/g-lipid、2,4,6-TBP で 0.53 ng/g-lipid、TBBP-A で 2.97ng/g-lipid であった。日本の母乳中の HBCDs の汚染はこの 10 年間で増加傾向を示し、他のアジア諸国と比べても高いことが明らかになった。本研究では母乳中 BFR 濃度と年齢、出産回数との強い関係は見られず、母乳中 BFR 濃度は他の要因（食事や使用する電化製品等）の影響を受けていると考えられる。

A. 研究目的

最近二十年の間に、POPs モニタリングの範囲は、現在使用中の臭素化合物へと拡大している。特にポリ臭化ジフェニルエーテル (PBDEs) などの臭素系難燃剤 (brominated flame retardants :BFR) は、海洋哺乳動物及びヒトで検出されて注目を集めている (Kajiwara et al., 2008; Isobe et al., 2011; Tanabe et al., 2008)。BFR は 2004 年、アジア市場の PBDE 製品の規制を受け、ヘキサブロモシクロドデカン類 (HBCDs) とテトラブロモビスフェノール A (TBBP-A) のような他の難燃剤の使用へとシフトしてきている (Tanabe et al., 2008; Isobe et al., 2007; Ueno et al., 2010; Law et al., 2006)。

PBDEs については日本における野生生物組織とヒトへの蓄積についていくつかの先行研究があるが (Kajiwara et al., 2008; Isobe et al., 2009; 2011; Lam et al., 2009; Moon et al., 2010)、HBCDs と TBBP-A についての情報は少ない。本研究では現在不足している母乳中 HBCD、TBBP-A、2,4,6-TBP の汚染実態の把握とその濃度に影響を与える要因を解明するために、日本の 6 地域に住む異なる年齢と出産回数の母親から採取した 64 検体の母乳試料の分析を行なった。

B. 研究方法

分析母乳試料の詳細を Table 1 に示す。2008 年から 2010 年の間に日本の

6地域（宮城、東京、岐阜、京都、兵庫、長崎）で採取した母乳を用いた（Fig.1）。母乳約5mLに内標準として3種の $^{13}\text{C}_{12}$ -labelled HBCD異性体、 $^{13}\text{C}_{12}$ -labelled TBBP-A、 $^{13}\text{C}_6$ -labelled 2,4,6-TBPを添加した。次にジクロロメタン/ヘキサン(1:1, v/v)を加え、抽出液を濃縮し脂肪量を測定した。GPC処理後、回収率を見るためにd18- β -HBCDを添加した。LC/MS/MSの詳細設定とクロマトグラムをTable 2とFig. 2に示す。

C. 研究結果・考察

64検体の母乳試料に含まれる脂質は0.8~2.9%、幾何平均で12%であった。分析結果をTable 3に示す。全試料中でHBCD異性体の α -HBCDs、 β -HBCDsおよび γ -HBCDsはそれぞれ100%、91%、64%の割合で検出された。 α -HBCDの幾何平均値は2.2ng/g lipidであり、全HBCD異性体合計の平均値の83% (24-100%)を占めた。一方 β -HBCDと γ -HBCDはそれぞれ9.6% (0.08-51%)と7.0% (0.12-75%)であった。HBCD合計では幾何平均値で2.2ng/g lipidであった。フェノール性BFRのうち、2,4,6-TBPとTBBP-Aは90%と97%で検出され、それぞれ幾何平均値で0.9と2.9ng/g lipidであった。HBCDsの異性体の中で、 α -HBCDの割合が高いことは先行研究と一致している（Abdallah and Harrad, 2011, Kakimoto et al., 2008; Polder et al., 2008, Shi et al., 2009, Eljarrat et al., 2009）。今回の α -HBCDの平均濃度（2008-2010年の母乳試料）は先行研究（Kakimoto et al., 2008：1988-2006年の母乳試料）よりも高く、日本の環境中におけるHBCDの濃度の増加を示している。現在の日本のHBCDsの濃度はスウェーデン、ロシア、フィリピン、ノルウェー(0.25-0.86ng/g lipid)よりも高く、中国、ベルギー、カ

ナダ、ベトナム、イギリス(1.0-3.8ng/g lipid)と同程度であった（Carignan et al., 2012; Abdallah and Harrad, 2011; Polder et al., 2008; Shi et al., 2009; 2013; Eljarrat et al., 2009; Malarvannan et al., 2009; Thomsen et al., 2010; Colles et al., 2008; Tue et al., 2010; Harrad et al., 2009）。試料収集や分析方法は一部で異なるものの、HBCDsがアメリカにくらべ、アジアやヨーロッパで高い傾向は先行研究と一致している（Watanabe et al., 2003; Law et al.; 2008）。Isobe et al (2009)は日本人の脂肪組織中のHBCDs (0.85-39 ng/g lipid) がアメリカのものより高いことを報告している（Johnson-Restrepo et al., 2008）。母乳中のHBCDsとTBBP-Aは先行研究のPBDEsと同程度の濃度であった（Haraguchi et al., 2009）。TBBP-Aは α -HBCDとPBDEsと同レベルで検出された。TBBP-Aは日本での先行研究が少なく比較はできないが、本研究でのTBBP-A（幾何平均, 2.9 ng/g lipid）は中国の都市部居住者の母乳中濃度(平均 0.4 ng/g lipid)（Shi et al., 2013）よりも高く、イギリスやフランスと同程度であった（Abdallah and Harrad, 2011; Cariou et al., 2008）。本研究では3検体において非常に高濃度のTBBP-A (>100 ng/g lipid) が検出された。これは職業曝露によるものと思われる。2,4,6-TBPの日本人中濃度についての研究は妊娠中女性についてのみ報告されており（130 pg/g lipid, Kawashiro et al., 2008）、本研究の分析結果はそれと同程度であった。また、ノルウェーの母乳試料の分析結果（0.077-26 pg/g wet, Thomsen et al., 2002）とも同程度であった。

各測定物質と年齢、出産回数の相関関係をTable 4とFig. 3に示す。2,4,6-TBP および TBBP-Aの間には正

の相関が見られ($r = 0.286$, $p < 0.05$)、これら 2 つのフェノール性 BFR が類似の動態を示すことが示唆された。HBCD 異性体の β -HBCD と α 及び γ -HBCD との間に相関は見られなかったが、 β -HBCD とフェノール性 BFR との間には相関が見られた($r = 0.44$, $p < 0.01$)。年齢との相関関係は γ -HBCD においてのみ見られた($r = 0.278$, $p < 0.01$)。出産回数との関連は、 γ -HBCD においてのみ正の相関が見られた。Table 3 において、TBBP-A、 γ -HBCD は経産婦で初産婦より高い傾向が見られたが有意差はなかった ($p > 0.05$)。

D. 結論

本研究では 2008~2010 年の母乳試料中に同程度の HBCDs と TBBP-A の検出が確認された。本研究では日本の母乳中 HBCDs 濃度は先行研究と比較して、上昇傾向を示すことを明らかにした。HBCDs の中で α -HBCD が最も高濃度であったが、 β -HBCD はフェノール性 BFR と相関を示し、 γ -HBCD は年齢との相関がみられた。日本国内のフェノール性 BFR の経年変化については先行研究がないことから現在も不明である。本研究は BFR の体内負荷量は出産回数や年齢とは無関係であることを示唆し、別の要因、例えば食事内容や使用する電化製品等の個々人のライフスタイルとの関連が考えられる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表・その他

なし

G. 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

H. 文献

- Abdallah, M. A. E.; Harrad, S., Tetrabromobisphenol-A, hexabromocyclododecane and its degradation products in UK human milk: Relationship to external exposure. *Environment International* **2011**, *37*: 443-448.
- Carignan, C. C.; Abdallah, M. A. E.; Wu, N.; Heiger-Bernays, W.; McClean, M. D.; Harrad, S.; Webster, T. F., Predictors of tetrabromobisphenol-A (TBBP-A) and hexabromocyclododecanes (HBCD) in milk from Boston mothers. *Environmental Science and Technology* **2012**, *46*: 12146-12153.
- Colles, A.; Koppen, G.; Hanot, V.; Nelen, V.; Dewolf, M. C.; Noël, E.; Malisch, R.; Kotz, A.; Kypke, K.; Biot, P.; Vinkx, C.; Schoeters, G., Fourth WHO-coordinated survey of human milk for persistent organic pollutants (POPs): Belgian results. *Chemosphere* **2008**, *73*: 907-914.
- Cariou, R.; Antignac, J. P.; Zalko, D.; Berrebi, A.; Cravedi, J. P.; Maume, D.; Marchand, P.; Monteau, F.; Riu, A.; Andre, F.; Le Bizec, B., Exposure assessment of French women and their newborns to tetrabromobisphenol-A: occurrence measurements in maternal adipose tissue, serum, breast milk and cord serum. *Chemosphere* **2008**, *73*: 1036-1041.
- Eljarrat, E.; Guerra, P.; Martínez, E.; Farré, M.; Alvarez, J. G.;

- López-Teijón, M.; Barceló, D., Hexabromocyclododecane in Human Breast Milk: Levels and Enantiomeric Patterns. *Environmental Science & Technology* **2009**, *43*: 1940-1946.
- Harrad, S.; de Wit, C. A.; Abdallah, M. A.-E.; Bergh, C.; Björklund, J. A.; Covaci, A.; Darnerud, P. O.; de Boer, J.; Diamond, M.; Huber, S.; Leonards, P.; Mandalakis, M.; Östman, C.; Haug, L. S.; Thomsen, C.; Webster, T. F., Indoor Contamination with Hexabromocyclododecanes, Polybrominated Diphenyl Ethers, and Perfluoroalkyl Compounds: An Important Exposure Pathway for People? *Environmental Science & Technology* **2010**, *44*: 3221-3231.
- Haraguchi, K.; Koizumi, A.; Inoue, K.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Minata, M.; Tanabe, M.; Kato, Y.; Nishimura, E.; Yamamoto, Y.; Watanabe, T.; Takenaka, K.; Uehara, S.; Yang, H. R.; Kim, M. Y.; Moon, C. S.; Kim, H. S.; Wang, P.; Liu, A.; Hung, N. N., Levels and regional trends of persistent organochlorines and polybrominated diphenyl ethers in Asian breast milk demonstrate POPs signatures unique to individual countries. *Environment International* **2009**, *35*: 1072-1079.
- Isobe, T.; Oda, H.; Takayanagi, N.; Kunisue, T.; Komori, H.; Arita, N.; Ueda, N.; Nose, M.; Yamada, T.; Takahashi, S.; Tanabe, S., Hexabromocyclododecanes in human adipose tissue from Japan. *Environmental Chemistry* **2009**, *6*: 328-333.
- Isobe, T.; Oshihoi, T.; Hamada, H.; Nakayama, K.; Yamada, T. K.; Tajima, Y.; Amano, M.; Tanabe, S., Contamination status of POPs and BFRs and relationship with parasitic infection in finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) from Seto Inland Sea and Omura Bay, Japan. *Marine Pollution Bulletin* **2011**, *63*: 564-571.
- Isobe, T.; Ramu, K.; Kajiwara, N.; Takahashi, S.; Lam, P. K. S.; Jefferson, T. A.; Zhou, K.; Tanabe, S., Isomer specific determination of hexabromocyclododecanes (HBCDs) in small cetaceans from the South China Sea - Levels and temporal variation. *Marine Pollution Bulletin* **2007**, *54*: 1139-1145.
- Lam, J. C.; Lau, R. K.; Murphy, M. B.; Lam, P. K., Temporal trends of hexabromocyclododecanes (HBCDs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and detection of two novel flame retardants in marine mammals from Hong Kong, South China. *Environmental Science & Technology* **2009**, *43*: 6944-6949.
- Law RJ, Bersuder P, Allchin CR, Barry J. Levels of the flame retardants hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A in the blubber of harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded or bycaught in the U.K., with evidence for an increase in HBCD concentrations in recent years. *Environmental Science & Technology* **2006**, *40*: 2177-2183.
- Law RJ, Herzke D, Harrad S, Morris S, Bersuder P, Allchin CR. Levels and trends of HBCD and BDEs in the European and Asian environments, with some information for other BFRs. *Chemosphere* **2008**, *73*: 223-241.
- Malarvannan, G.; Kunisue, T.; Isobe, T.; Sudaryanto, A.; Takahashi, S.; Prudente, M.; Subramanian, A.; Tanabe, S., Organohalogen compounds in human breast milk from mothers living in Payatas and Malate, the Philippines: Levels, accumulation kinetics and infant health risk. *Environmental Pollution* **2009**, *157*: 1924-1932.
- Moon, H. B.; Kannan, K.; Choi, M.; Yu,

- J.; Choi, H. G.; An, Y. R.; Choi, S. G.; Park, J. Y.; Kim, Z. G., Chlorinated and brominated contaminants including PCBs and PBDEs in minke whales and common dolphins from Korean coastal waters. *Journal of Hazardous Materials* **2010**, *179*: 735-741.
- Johnson-Restrepo, B.; Adams, D. H.; Kannan, K., Tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexabromocyclododecanes (HBCDs) in tissues of humans, dolphins, and sharks from the United States. *Chemosphere* **2008**, *70*: 1935-44.
- Kakimoto, K.; Akutsu, K.; Konishi, Y.; Tanaka, Y., Time trend of hexabromocyclododecane in the breast milk of Japanese women. *Chemosphere* **2008**, *71*: 1110-1114.
- Kajiwara, N.; Kamikawa, S.; Amano, M.; Hayano, A.; Yamada, T. K.; Miyazaki, N.; Tanabe, S., Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and organochlorines in melon-headed whales, *Peponocephala electra*, mass stranded along the Japanese coasts: Maternal transfer and temporal trend. *Environmental Pollution* **2008**, *156*: 106-114.
- Kawashiro, Y.; Fukata, H.; Omori-Inoue, M.; Kubonoya, K.; Jotaki, T.; Takigami, H.; Sakai, S.; Mori, C., Perinatal exposure to brominated flame retardants and polychlorinated biphenyls in Japan. *Endocr J* **2008**, *55*: 1071-84.
- Law, R. J.; Herzke, D.; Harrad, S.; Morris, S.; Bersuder, P.; Allchin, C. R., Levels and trends of HBCD and BDEs in the European and Asian environments, with some information for other BFRs. *Chemosphere* **2008**, *73*: 223-241.
- Park, J. S.; Bergman, A.; Linderholm, L.; Athanasiadou, M.; Kocan, A.; Petrik, J.; Drobna, B.; Trnovec, T.; Charles, M. J.; Hertz-Picciotto, I., Placental transfer of polychlorinated biphenyls, their hydroxylated metabolites and pentachlorophenol in pregnant women from eastern Slovakia. *Chemosphere* **2008**, *70*: 1676-84.
- Polder, A.; Gabrielsen, G. W.; Odland, J. Ø.; Savinova, T. N.; Tkachev, A.; Løken, K. B.; Skaare, J. U., Spatial and temporal changes of chlorinated pesticides, PCBs, dioxins (PCDDs/PCDFs) and brominated flame retardants in human breast milk from Northern Russia. *Science of the Total Environment* **2008**, *391*: 41-54.
- Polder, A.; Thomsen, C.; Lindström, G.; Løken, K. B.; Skaare, J. U., Levels and temporal trends of chlorinated pesticides, polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants in individual human breast milk samples from Northern and Southern Norway. *Chemosphere* **2008**, *73*: 14-23.
- Shi, Z. X.; Wu, Y. N.; Li, J. G.; Zhao, Y. F.; Feng, J. F., Dietary exposure assessment of Chinese adults and nursing infants to tetrabromobisphenol-A and hexabromocyclododecanes: Occurrence measurements in foods and human milk. *Environmental Science and Technology* **2009**, *43*: 4314-4319.
- Shi, Z.; Jiao, Y.; Hu, Y.; Sun, Z.; Zhou, X.; Feng, J.; Li, J.; Wu, Y., Levels of tetrabromobisphenol A, hexabromocyclododecanes and polybrominated diphenyl ethers in human milk from the general population in Beijing, China. *Science of the Total Environment* **2013**, *452-453*: 10-18.
- Tanabe, S.; Ramu, K.; Isobe, T.; Takahashi, S., Brominated flame retardants in the environment of Asia-Pacific: An overview of spatial and temporal trends. *Journal of*

- Environmental Monitoring* **2008**, *10*: 188-197.
- Thomsen, C.; Leknes, H.; Lundanes, E.; Becher, G., A new method for determination of halogenated flame retardants in human milk using solid-phase extraction. *J Anal Toxicol* **2002**, *26*: 129-37.
- Thomsen, C.; Stigum, H.; Frøshaug, M.; Broadwell, S. L.; Becher, G.; Eggesbø, M., Determinants of brominated flame retardants in breast milk from a large scale Norwegian study. *Environment International* **2010**, *36*: 68-74.
- Tue, N. M.; Sudaryanto, A.; Minh, T. B.; Isobe, T.; Takahashi, S.; Viet, P. H.; Tanabe, S., Accumulation of polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants in breast milk from women living in Vietnamese e-waste recycling sites. *Science of the Total Environment* **2010**, *408*: 2155-2162.
- Ueno, D.; Isobe, T.; Ramu, K.; Tanabe, S.; Alae, M.; Marvin, C.; Inoue, K.; Someya, T.; Miyajima, T.; Kodama, H.; Nakata, H., Spatial distribution of hexabromocyclododecanes (HBCDs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and organochlorines in bivalves from Japanese coastal waters. *Chemosphere* **2010**, *78*: 1213-1219.
- Watanabe, I.; Sakai, S. I., Environmental release and behavior of brominated flame retardants. *Environment International* **2003**, *29*: 665-682.

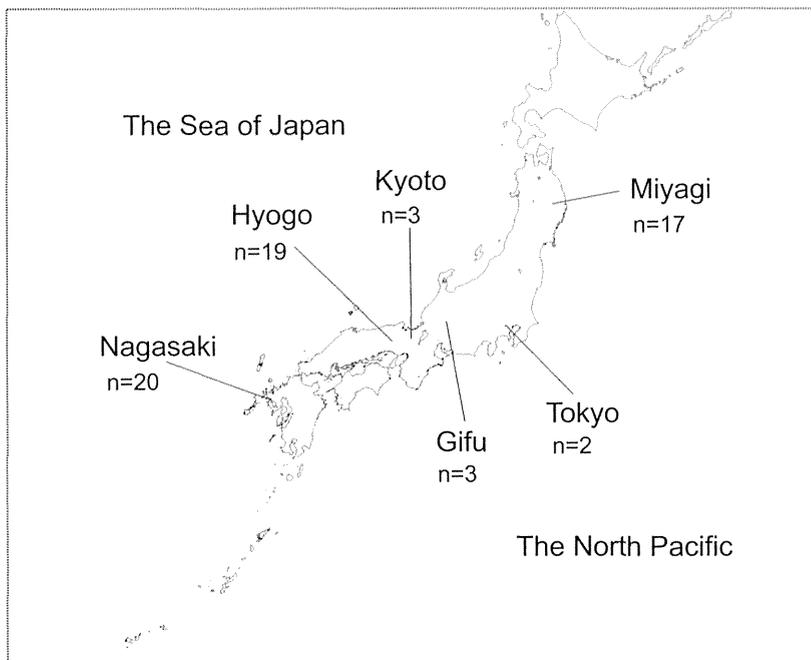


Fig. 1 Sampling site of breast milk in Japan

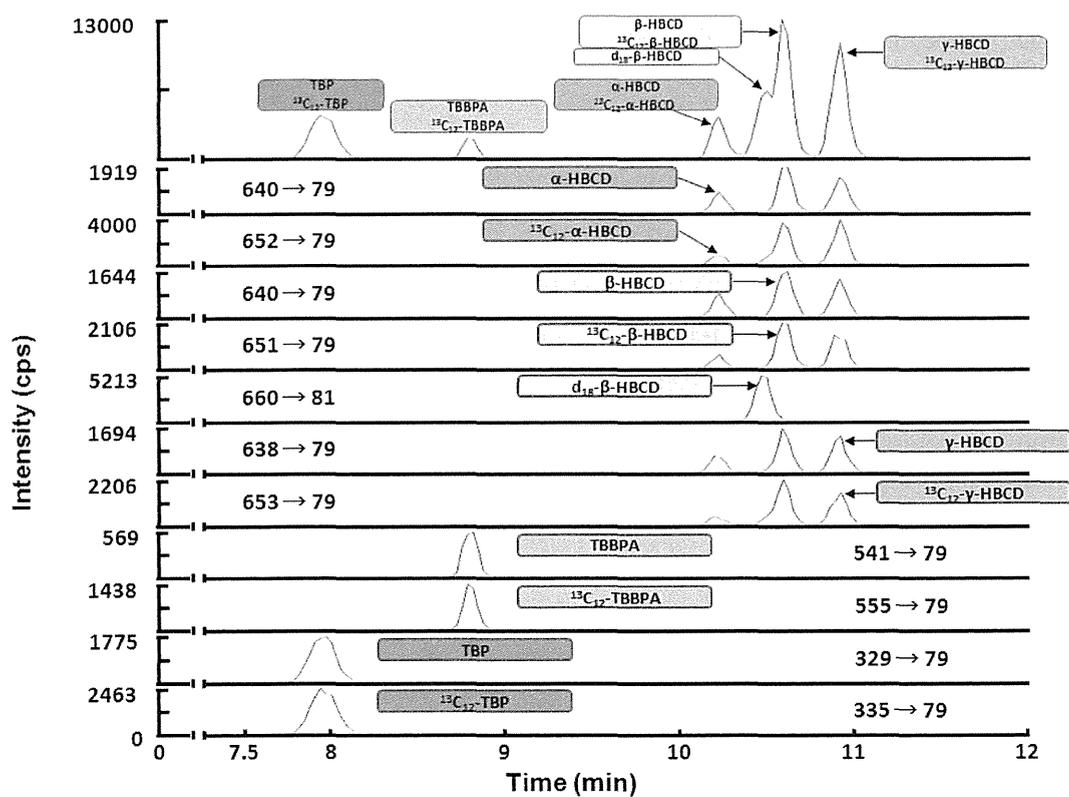


Fig. 2 Chromatograms of (A) TBP, (B) TBBPA, (C) α -HBCD, (D) d_{18} - β -HBCD, (E) β -HBCD, (F) γ -HBCD in matrix match calibration standard (milk) at concentration 0.5 ng/mL.

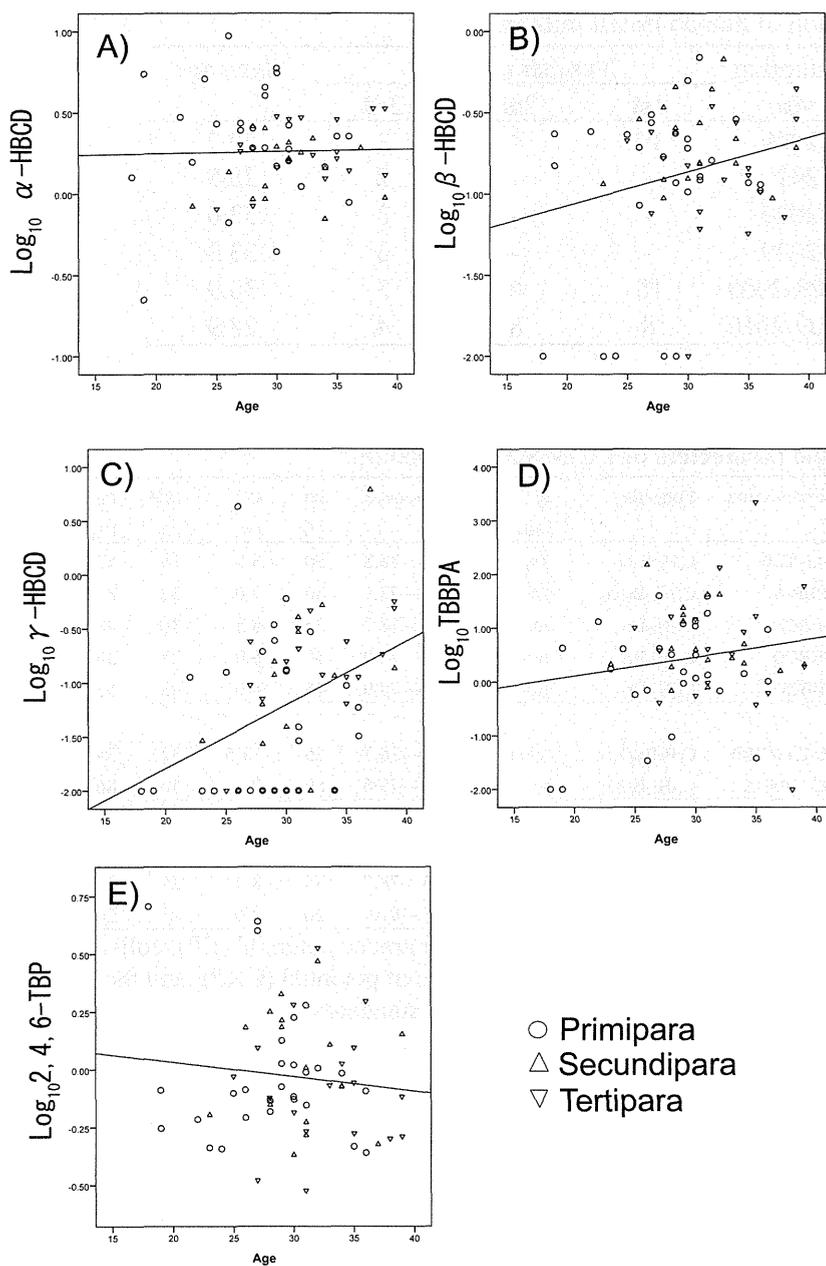


Fig. 3 Relationship between the age of mothers and concentrations of analytes
Gamma HBCD $r=0.278$, $p=0.002$.

Table 1. Sample information of human breast milk in Japan

| Region | N | Sampling year | Number of births | | | Mean age |
|----------|----|---------------|------------------|-----|-----|----------|
| | | | 1st | 2nd | 3rd | |
| Miyagi | 17 | 2009 | 10 | 4 | 3 | 29.7 |
| Tokyo | 2 | 2010 | - | - | 2 | 28.5 |
| Gifu | 3 | 2009 | - | - | 3 | 32.0 |
| Kyoto | 3 | 2009 | - | - | 3 | 33.3 |
| Hyogo | 19 | 2008-2009 | 10 | 6 | 3 | 30.9 |
| Nagasaki | 20 | 2009-2010 | 8 | 8 | 4 | 28.9 |

Table 2. List of analytes and parameters of LC-MS/MS detection

| Compound | Abbreviation | Formula | t _r (min) | MRM-transition (m/z) | DP (V) | CP (V) | DEP (V) | CE (V) | CXP (V) |
|--|---------------------------|--|-------------------------|-------------------------|-----------|-----------|------------|-----------|------------|
| 2,4,6-tribromophenol | 2,4,6-TBP | C ₆ H ₂ Br ₃ O | 7.9 | 328.6—78.8 | 50 | 3.0 | 14 | 52 | 2 |
| Tetrabromobisphenol A | TBBP-A | C ₁₅ H ₁₂ Br ₄ O ₂ | 8.8 | 540.5—78.9 | 80 | 7.0 | 32 | 86 | 0 |
| α-hexabromocyclododecane | α-HBCD | C ₁₂ H ₁₈ Br ₆ | 10.2 | 640.4—78.7 | 25 | 8.5 | 30 | 48 | 2 |
| β-hexabromocyclododecane | β-HBCD | C ₁₂ H ₁₈ Br ₆ | 10.6 | 640.4—79.0 | 40 | 6.0 | 28 | 30 | 2 |
| γ-hexabromocyclododecane | γ-HBCD | C ₁₂ H ₁₈ Br ₆ | 10.9 | 638.4—78.9 | 45 | 4.0 | 48 | 56 | 0 |
| ¹³ C-2,4,6-tribromophenol | ¹³ C-2,4,6-TBP | C ₆ H ₂ Br ₃ O | 7.9 | 334.6—78.7 | 55 | 11.5 | 32 | 54 | 2 |
| ¹³ C- Tetrabromobisphenol A | ¹³ C-TBBP-A | C ₁₅ H ₁₂ Br ₄ O ₂ | 8.8 | 554.6—79.6 | 80 | 7.5 | 50 | 86 | 0 |
| ¹³ C-α-hexabromocyclododecane | ¹³ C-α-HBCD | C ₁₂ H ₁₈ Br ₆ | 10.2 | 652.5—78.7 | 30 | 6.0 | 26 | 32 | 2 |
| ¹³ C-β-hexabromocyclododecane | ¹³ C-β-HBCD | C ₁₂ H ₁₈ Br ₆ | 10.6 | 650.5—78.8 | 30 | 9.5 | 25 | 32 | 2 |
| ¹³ C-γ-hexabromocyclododecane | ¹³ C-γ-HBCD | C ₁₂ H ₁₈ Br ₆ | 10.9 | 652.5—78.7 | 35 | 8.0 | 26 | 28 | 2 |
| d ₁₈ -β- hexabromocyclododecane | d ₁₈ -β-HBCD | C ₁₂ H ₁₈ Br ₆ | 10.4 | 659.5—81.0 | 40 | 7.0 | 26 | 50 | 0 |

API 3200 MS/MS parameters of declustering potential (DP), entrance potential (EP), collision cell entrance potential (CEP), collision energy (CE), collision cell exit potential (CXP), and the retention times were also presented for all targeted analytes and internal standards.

Table 3. Concentrations of α -HBCD, β -HBCD, γ -HBCD, TBBPA and 2,4,6,-TBP in Japanese breast milk

| | | Concentration (ng/g-lipid wt) | | | | | |
|-----------|----------------|-------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | α -HBCD | β -HBCD | γ -HBCD | TBBPA | 2,4,6-TBP | Σ HBCD |
| Primipara | n>LOQ (%) | 28 (100) | 23 (82) | 15 (54) | 27(96) | 28(100) | 28(100) |
| | Mean±SD | 2.8 ± 2.1 | 0.18 ± 0.15 | 0.24 ± 0.80 | 6.7±10.6 | 0.71±0.44 | 3.17 ± 2.67 |
| | Median (Range) | 2.3 (0.22-9.4) | 0.15 (<LOQ-0.7) | 0.031 (4.3-0.01) | 1.65(39.9-0.01) | 0.73(1.90) | 2.48(0.46-13.9) |
| | GM (GSD) | 2.1 (0.00) | n 0.1 (0.00) | n 0.034 (0.04) | n 1.56(0.94) | n 0.44 (0.00) | n 2.44(0.00) |
| Secundip | n>LOQ (%) | 18 (100) | 18 (100) | 12(67) | 18(100) | 18(100) | 18(100) |
| | Mean±SD | 1.6 ± 0.6 | 0.24 ± 0.15 | 0.45 ± 1.42 | 17.6±35.7 | 0.80 ±0.54 | 2.27±1.62 |
| | Median (Range) | 1.6 (0.7-2.6) | 0.20 (0.09-0.7) | 0.051 (6.1-0.01) | 3.37(151-0.7) | 0.72(1.78) | 1.95(0.86-8.12) |
| | GM (GSD) | 1.5 (0.0) | n 0.2 (0.0) | n 0.055 (0.1) | n 5.34(0.0) | n 0.44(0.0) | n 1.95(0.0) |
| Tertipara | n>LOQ (%) | 18(100) | 17(94) | 15(83) | 17(94) | 18(100) | 18(100) |
| | Mean±SD | 2.0 ± 0.8 | 0.17 ± 0.12 | 0.19 ± 0.17 | 138±517 | 1.02±0.75 | 2.36±0.92 |
| | Median (Range) | 1.8 (0.8-3.4) | 0.14 (<LOQ-0.4) | 0.14 (0.57-0.0) | 3.96(2209-0.0) | 0.81(3.36-0.30) | 2.01(1.02-4.28) |
| | GM (GSD) | 1.8 (0.0) | n 0.1 (0.0) | n 0.11 (0.0) | n 4.47(4.7) | n 0.84(0.0) | n 2.19(0.0) |
| Total | n>LOQ (%) | 64(100) | 58(91) | 42(66) | 62(97) | 64(100) | 64(100) |
| | Mean±SD | 2.2 ± 1.5 | 0.19 ± 0.14 | 0.29 ± 0.92 | 46.7±276 | 0.82±0.57 | 2.69±2.04 |
| | Median (Range) | 1.9 (0.2-9.4) | 0.15 (<LOQ-0.7) | 0.08 (6.1-0.0) | 3.20(2209-0.0) | 0.75(3.36) | 2.20(0.46-13.9) |
| | GM (GSD) | 1.8 (0.0) | 0.13 (0.0) | 0.06 (0.0) | 2.97(0.9) | 0.53(0.0) | 2.22(0.0) |

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

Table 4. Spearman's rank correlation coefficients between analytes (N=64).

| | Age | Parity | α -HBCD | β -HBCD | γ -HBCD | TBBP-A | TBP |
|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|---------------|-------|
| Parity | 0.374** | | | | | | |
| α -HBCD | -0.039 | -0.144 | | | | | |
| β -HBCD | 0.05 | 0.005 | 0.000 | | | | |
| γ -HBCD | 0.378** | 0.263* | 0.171 | 0.161 | | | |
| TBBP-A | 0.057 | 0.169 | 0.059 | 0.440** | -0.103 | | |
| 2,4,6-TBP | 0.188 | 0.147 | 0.000 | 0.320** | 0.185 | 0.286* | |
| Σ HBCD | 0.040 | -0.108 | 0.960** | 0.096 | 0.296* | 0.111 | 0.031 |

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

汚染が懸念される物質のモニタリング

(3) 日本および韓国人血清中のトリクロサン汚染実態の解明

研究分担者 原口 浩一 第一薬科大学薬学部・教授
研究協力者 藤井 由希子 第一薬科大学薬学部・助教

汚染が懸念されるフェノール性ハロゲン化合物（POC）のうち、トリクロサン（TCS）のヒト曝露の実態調査を行う目的で、日本および韓国人女性の血清中の残留濃度を調べた。2009-2010年のヒト血清中におけるTCSの平均残留量は韓国（ソウル）で1.07 ng/mL、日本（京都）で3.08ng/g lipidとなり、日本人のTCS濃度が有意に高い値を示した。日本人のTCS血中濃度は年齢に依存せず、増加傾向を示さなかった。前回の調査結果を考慮すると、TCSの多くは食事経由で曝露された後、その一部が血清中に残留していると思われる。一方、血清中の残留農薬のうちHCB、エンドスルファン、ジコホールが<LOQ~0.66 ng/mLの範囲で検出された。TCSは、日本ではHCH、trans-NCおよびPCB153と関連したが、韓国では相関性は見られなかったことから、TCSの起源が食事由来以外の可能性が示唆された。

A. 研究目的

ヒトに残留が懸念されるフェノール性ハロゲン化合物（POC）のうち、我々はこれまでに2,4,6-tribromophenol (TBP)、pentachlorophenol (PCP)、tetrabromobisphenol A (TBBP-A)およびhydroxy-tetrabromodiphenyl ether (OH-BDE)の残留実態を母乳を用いて調査してきた(Fujii et al., 2014)。汚染が懸念されるトリクロサン(5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol; TCS)については、日本の食事、母乳中濃度を昨年度の報告書にまとめた。TCSは、OH-BDEと同様の骨格を有し、広く医療現場で消毒剤として用いられている。また日常の化粧品や歯磨き粉に添加されて利用されており、環境中に流出すると一部は河川や海底に蓄積される(Rodoricks et al.,

2010)。TCSの毒性は低いとされるが、その疎水性や難分解性のため魚介類から飲料水に至るまで検出され、ヒト体内への曝露が報告されている(Bedoux et al., 2012)。TCSは、動物実験で内分泌かく乱性が指摘されている(Axelstad et al., 2013; Paul et al., 2012)。また、過剰な使用はTCS耐性菌の出現リスクを高める可能性もある(Chen et al., 2011; Sandborgh-Englund et al., 2006; Pycke et al., 2014)。日本における魚介類からもTCSが検出され(Miyazaki et al., 1984; Okumura et al., 1996)、ヒトの食事からの摂取量が推定されている(Canosa et al., 2008)。欧米ではヒトの血清や母乳中でTCS残留の報告がなされ(Allmyr et al 2008; Dayan et al 2007)、継続的なモニタリングと毒性評価が行われている(Dann et

a 2011; Dayan et al 2007)。我々は前回の報告で日本人の食事からの TCS の曝露量と母乳中濃度を報告した。しかし、血清中の濃度について他のアジア諸国との比較はなされていない。

本研究は、京都大学ヒト試料バンクに保管してある日本および韓国の血清試料を用いて、TCS の血清中濃度を計測するための分析法を確立し、日韓両国での調査結果を海外の先行研究結果と比較検証することを目的とした。また、TCS の比較対象物質として、古典的 POPs および関連残留農薬であるエンドスルファン、ジコホールについても測定し、相関性を調べたので合わせて報告する。

B. 研究方法

1) 血清収集

京都大学ヒト由来試料バンクに保存されている試料のうち、2007年に韓国(ソウル市)の24~48歳の女性19名(平均年齢35歳)および2009年に日本(京都市)の24~69歳の女性19名(平均年齢52歳)から提供された血清を使用した(Koizumi et al., 2009)。この研究に関するプロトコール(E25)は京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院 医の倫理委員会により承認され、参加者全員から書面による同意を得た。

2) 化学物質

TCS 標準品は Cambridge Isotope Laboratories 社製を用いた。内標準として ^{13}C -triclosan、 ^{13}C -methyltriclosan および ^{13}C -endosulfan (Wellington Laboratories社製)を用いた。シリンジスパイクはストックホルム大学(Dr. G. Marsh)より譲渡された4'-methoxy-BDE121を用いた。TCSの誘導体化剤として pentafluorobenzoate

chloride (Sigma-Aldrich社製)を用いた。分析に使用した溶媒は残留農薬試験用または高速液体クロマトグラフィー用を用いた。シリカゲル(Wako gel S-1)は和光純薬より購入し、使用前に130°Cで3時間乾燥させた。

3) サンプル前処理

血清の前処理は、従来の方法を一部変更した(Fujii et al., 2014; Haraguchi et al., 2009)。(1) 脂肪抽出、(2) ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)、(3) KOH+EtOH/ヘキサンによる液-液分配抽出と誘導体化(PFB)、(4) シリカゲルカラムによる精製の手順で行った。

(1) 血清 1 mL に0.1% ギ酸(5 mL)、エタノール:ジエチルエーテル:n-ヘキサン(2:1:7) 20 mLの有機溶媒および内標準物質(^{13}C -triclosan, ^{13}C -methyltriclosan および ^{13}C -endosulfan 各2.0 ng/mL)を加えて、ホモジナイズし、遠心分離により上層を分離した。

(2) 抽出液は濃縮後、ジクロロメタン(DCM):n-ヘキサン(1:1 v/v)に溶解し、Bio-Beads S-X3 カラム(40g, Bio-Rad 社製)に付した。移動相は同溶媒を用い、流速 4 mL/minで、最初の96-mL溶出で脂質を除去し、その後の64-mLを回収した。

(3) GPC 溶出液をn-ヘキサン(10 mL)溶液とし、1M KOH-エタノール(7:3)溶液(2mL)で分配抽出を行い、上層(中性物質)と下層(フェノール性物質)を分離した。中性分画は1 mLまで濃縮し、(4)で述べるシリカゲルカラムに付した。分配抽出の下層に1M 塩酸 2 mLを加えた後、n-ヘキサン:ジエチルエーテル(8:2, v/v, 10 mL)で逆抽出操作を3回を行い、抽出液 2 mL(フェノール性分画)とした。その1 mLについてPFB(10 μL)を加え40°C、30分

で誘導体化を行った (PFB 誘導体分画)。残りの1 mLについてはジアゾメタンでメチル化し、メチル化誘導体とした。

(4) 中性分画およびメチル化誘導体分画はともに、シリカゲルカラム (0.2 g, Wako gel S-1) に付して、DCM/n-hexane (12:88, v/v, 15mL)で溶出した。溶出液はシリンジスパイクとして4'-methoxy-BDE121を加え、200 μ Lにまで濃縮し、GC-MSの分析試料とした。

4) 分析機器と定量

GC-MSはAgilent GC/MSD-5973i に6890N-GCを接続した装置を用い、負イオン化学イオン化 (ECNI) 法で分析した。試薬ガスはメタンを用いた。GC/MSの設定条件と分析対象物質の検出イオンをTable 1 に示す。TCSの定量はイオンクロマトグラム上のシグナルを内標準PFB-¹³C-TCSのシグナルと比較して作成した検量線で行った。

5) 品質管理と品質保証

ブランク操作は10サンプル毎に行い、妨害ピークが存在しないことを確認した。標準物質および内標準物質 (Table 1 に記載分について0.2-10 ng/mL) の血清への添加回収率は74~99%、相対標準偏差は12%以下であった (n=5)。PFB-TCSの定量限界 (LOQ)はシグナル/ノイズ比 = 10で算出すると、0.10 ng/mLであった (Table 1)。分析値がLOQ以下であった場合、LOQの1/2の値を平均値の計算に用いた。検量線は各物質とも0.2 ~ 10 ng/mLの範囲で直線性を示した (> 0.99)。精度管理のため Standard Reference Material (SRM1954, Organic Contaminants in Non-Fortified Human

Milk, NIST) を用いて定量した結果、4,4'-DDE、HCB、trans-NC についての分析値は、いずれも認証値の15%以内であった。

C. 研究結果

1) TCS 分析法の検討

TCS の分析法として、ECNI-GCMS を用い、(1) 直接定量、(2) O-メチル化体としての定量および (3) O-PFB 体としての定量を検討した。検出イオンにおける定量下限値はそれぞれ (1) 0.25 ng/mL (m/z 266)、(2) 0.18 ng/mL (m/z 302)、(3) 0.05 ng/mL (m/z 484)でO-PFB 誘導体化が良好な結果を示した。少量の血清 (0.1 mL) を用いて、従来の GPC 処理およびシリカゲル処理を省略し PFB 誘導体化法を検討した結果、添加回収率 93%で LOQ 0.06 ng/mL の良好な結果が得られた。

2) 血清中の TCS (PFB 誘導体)

Table 2 に、日本 (京都) および韓国 (ソウル) の女性の血清中の TCS 濃度を示す。TCS はすべての血清から検出され、その平均値は日本で 3.08 ng/mL (0.97~7.7 ng/mL)、韓国で 1.07 ng/mL (0.4~3.5 ng/mL) で、有意に日本の TCS 濃度が高かった ($p < 0.001$)。

3) 血清中の POPs 濃度

血清中の中性分画から検出される古典的 POPs のうち、trans-NC、dicofol および PCB153 は日本の血清で有意に高濃度であった。残留農薬のうち、HCB、 β -HCH および α -endosulfan 濃度は <LOQ ~ 0.66 ng/mL の範囲で残留したが、日韓両国で有意差は見られなかった。

4) TCS 濃度の年齢および他の POPs 濃度との関連性

日韓における TCS 濃度と年齢との関連を Fig. 1 に示す。両国とも TCS 濃度に年齢との関連性は見られなかった。TCS と他の POPs 濃度との相関係数を Table 3 および Table 4 に示す。韓国の血清では、TCS は他の POPs と相関性は見られなかったが、日本の血清では、TCS と HCH、trans-NC および PCB153 との間に正の相関性がみられた ($p < 0.05$)。

D. 考察

1) 血清中の TCS

従来、TCS の定量は LC/MS/MS または GC/MS/ECNI で行われている (Dirtu et al 2008)。今回、Geens らが報告した GCMS-ECNI による定量法 (Geens et al., 2009) を改良し、TCS の PFB 誘導体化法を確立した。実際の測定は血清 1 mL を用いたが、本法誘導体化剤を用いれば、TCS モニタリングに 0.1 mL 量の血清で十分足りること分かった。日本および韓国の血清中の TCS 濃度を比較すると、日本での TCS 曝露量が多いことがわかる。昨年度の報告でも日本人母乳中の TCS が韓国母乳より高い結果がでており、TCS 曝露は日本人に比較的多いことが推察される。Hong Kong で測定された TCS 血清濃度は 0.15~10 ng/mL (Wu et al., 2012) であり、本結果と同濃度であった。ベルギーの血清では、0.1~9.2 ng/mL (total TCS) が検出されている (Geens et al., 2009)。スウェーデンの血清での TCS 濃度は中央値で 0.52 ng/mL を示した (Dirtu et al., 2008)。オーストラリアでは 4.1~13 ng/mL の範囲で抱合体を含む TCS が検出され (Allmyr et al., 2008)、また、アメリカでも TCS 血清中濃度の平均値は 1.1 ng/mL と示された (Ye et al., 2008; 2009)。なお、今回の調査結果は抱合体を算出していな

いが、その free TCS の割合は total TCS の約 10%程度であるとの報告が多い。Allmyr ら (2006) は TCS 含有製品を使っている母親の母乳では、使用していない母乳より高い TCS 濃度を示すことを明らかにしている。TCS 製品の使用頻度により食事以外からの曝露が母乳や血清濃度に反映されていると考えられる。ラット授乳による仔の TCS の NOAEL は 50mg/kg/day とされており (Dayan et al., 2007)、前回の母乳中の値はこれの約 1/20 のレベルに相当した。このため現状の TCS 血清レベルがヒトに影響を与える可能性は低いと思われる。

2) 血清中の TCS 濃度と年齢および他の残留農薬との関連性

前回の調査で、TCS は 2009 年の食事では、日韓ともほぼ同レベルを示した。このことは東アジア (日本と韓国) の生活用品のなかに含まれる TCS が一様に食品へ混入し、ヒトは日常的に食事経由で TCS に曝露されていることを示唆した。食事中的 TCS は魚介類に由来すると考えられる。TCS は環境中で海洋細菌により O-メチル化され (Allard et al., 1987)、methoxy-TCS (MeTCS) として生体内分布する報告がなされている。今回、血清中の MeTCS の検出を試みたが、定量下限値以下 (< 0.2 ng/mL) であった。これは、MeTCS のヒト曝露後、体内で容易に脱メチル化されることに起因すると考えられる (Balmer et al., 2004)。

こうして TCS を含む POCs は、食事 (海産物) 経由で体内に入り、そのまま血液中に残留する場合と、食事中的 POC のメチル化体が体内で脱メチル化されて POCs として残留する場合が考えられる (James et al., 2012; 太田ら 2012)。TCS や他の POCs の体内曝露

により、発達期の T4 の減少の結果、脳神経発達への影響 (Meerts et al., 2000; Suzuki et al., 2008; Axelstad et al., 2013; Paul et al., 2012) が懸念される。

D. 結論

今回、TCSのGC-ECNIによる定量法を検討した結果、誘導体化しない方法やO-メチル誘導体化法よりも、pentafluoro-benzoate (PFB)誘導体化を行うと、100 µLの血清使用量で分析が可能となり、血液や尿の試料のTCSモニタリングにも応用できると思われる。本法を用いて東アジア（日本と韓国）におけるヒト血清中のTCS濃度を測定した結果、日本（京都）で3 ng/mL前後を示し、韓国（ソウル）のそれより高濃度であった。TCSの血清濃度はほかのPOPsと異なり年齢に依存せず、また他の残留性化学物質との相関性は低かった。このことから、TCSはPOPsと異なる経路で曝露されていることも示唆された。今回調査したTCSはhydroxy-BDEと同じ骨格を有するハロゲン化合物であり、日本人のTCS曝露による影響評価を今後も継続する必要があると思われる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表・その他

なし

G. 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

H. 文献

- Allard, A. S.; Remberger, M.; Neilson, A. H., Bacterial O-methylation of halogen-substituted phenols. *Appl Environ Microbiol* **1987**, *53*: 839-845.
- Allmyr, M.; Adolfsson-Erici, M.; McLachlan, M. S.; Sandborgh-Englund, G., Triclosan in plasma and milk from Swedish nursing mothers and their exposure via personal care products. *Science of the Total Environment* **2006**, *372*: 87-93.
- Allmyr, M.; Harden, F.; Toms, L. M. L.; Mueller, J. F.; McLachlan, M. S.; Adolfsson-Erici, M.; Sandborgh-Englund, G., The influence of age and gender on triclosan concentrations in Australian human blood serum. *Science of the Total Environment* **2008**, *393*: 162-167.
- Axelstad, M.; Boberg, J.; Vinggaard, A. M.; Christiansen, S.; Hass, U., Triclosan exposure reduces thyroxine levels in pregnant and lactating rat dams and in directly exposed offspring. *Food and Chemical Toxicology* **2013**, *59*: 534-540.
- Balmer, M. E.; Poiger, T.; Droz, C.; Romanin, K.; Bergqvist, P. A.; Müller, M. D.; Buser, H. R., Occurrence of methyl triclosan, a transformation product of the bactericide triclosan, in fish from various lakes in Switzerland. *Environmental Science and Technology* **2004**, *38*: 390-395.
- Bedoux, G.; Roig, B.; Thomas, O.; Dupont, V.; Le Bot, B., Occurrence and toxicity of antimicrobial triclosan and by-products in the environment. *Environmental Science and Pollution Research* **2012**, *19*: 1044-1065.
- Canosa, P.; Rodríguez, I.; Rubí, E.; Ramil, M.; Cela, R., Simplified sample preparation method for triclosan and

- methyltriclosan determination in biota and foodstuff samples. *Journal of Chromatography A* **2008**, *1188*: 132-139.
- Chen, J.; Zhou, X.; Zhang, Y.; Zi, Y.; Qian, Y.; Gao, H.; Lin, S., Binding of triclosan to human serum albumin: insight into the molecular toxicity of emerging contaminant. *Environmental science and pollution research international* **2011**, *19*: 2528-2536.
- Dann, A. B.; Hontela, A., Triclosan: Environmental exposure, toxicity and mechanisms of action. *Journal of Applied Toxicology* **2011**, *31*: 285-311.
- Dayan, A. D., Risk assessment of triclosan [Irgasan®] in human breast milk. *Food and Chemical Toxicology* **2007**, *45*: 125-129.
- Dirtu, A. C.; Roosens, L.; Geens, T.; Gheorghe, A.; Neels, H.; Covaci, A., Simultaneous determination of bisphenol A, triclosan, and tetrabromobisphenol A in human serum using solid-phase extraction and gas chromatography-electron capture negative-ionization mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2008**, *391*: 1175-1181.
- Fujii, Y.; Nishimura, E.; Kato, Y.; Harada, K. H.; Koizumi, A.; Haraguchi, K., Dietary exposure to phenolic and methoxylated organohalogen contaminants in relation to their concentrations in breast milk and serum in Japan. *Environment International* **2014**, *63*: 19-25.
- Geens, T.; Neels, H.; Covaci, A., Sensitive and selective method for the determination of bisphenol-A and triclosan in serum and urine as pentafluorobenzoate-derivatives using GC-ECNI/MS. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* **2009**, *877*: 4042-4046.
- Haraguchi, K., Koizumi, A., Inoue, K., Harada, K.H., Hitomi, T., Minata, M., Tanabe, M., Kato, Y., Nishimura, E., Yamamoto, Y., Watanabe, T., Takenaka, K., Uehara, S., Yang, H.R., Kim, M.Y., Moon, C.S., Kim, H.S., Wang, P., Liu, A., Hung, N.N., 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.
- James, M. O.; Marth, C. J.; Rowland-Faux, L., Slow O-demethylation of methyl triclosan to triclosan, which is rapidly glucuronidated and sulfonated in channel catfish liver and intestine. *Aquatic Toxicology* **2012**, *124-125*: 72-82.
- Koizumi, A., Harada, K.H., Inoue, K., Hitomi, T., Yang, H.R., Moon, C.S., Wang, P., Hung, N.N., Watanabe, T., Shimbo, S., Ikeda, M., 2009. Past, present, and future of environmental specimen banks. *Environ Health Prev Med* **2009**, *14*: 307-318.
- Miyazaki, T.; Yamagishi, T.; Matsumoto, M., Residues of 4-chloro-1-(2,4-dichlorophenoxy)-2-methoxybenzene (triclosan methyl) in aquatic biota. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **1984**, *32*: 227-232.
- Okumura, T.; Nishikawa, Y., Gas chromatography-mass spectrometry determination of triclosans in water, sediment and fish samples via methylation with diazomethane. *Analytica Chimica Acta* **1996**, *325*: 175-184.
- 太田千穂、原口浩一、遠藤哲也、加藤善久、松原大、古賀信幸、海洋生物由来の2,4,6-tribromoanisoleの動物肝ミクロゾームによる代謝とその関連化合物の抗酸化活性、中村学

- 園大学研究紀要 **2012**, *44*: 215-223.
- Paul, K. B.; Hedge, J. M.; Bansal, R.; Zoeller, R. T.; Peter, R.; DeVito, M. J.; Crofton, K. M., Developmental triclosan exposure decreases maternal, fetal, and early neonatal thyroxine: A dynamic and kinetic evaluation of a putative mode-of-action. *Toxicology* **2012**, *300*: 31-45.
- Pycke, B. F. G.; Geer, L. A.; Dalloul, M.; Abulafia, O.; Jenck, A. M.; Halden, R. U., Human fetal exposure to triclosan and triclocarban in an urban population from Brooklyn, New York. *Environmental Science and Technology* **2014**, *48*: 8831-8838.
- Rodricks, J.V., Swenberg, J.A., Borzelleca, J.F., Maronpot, R.R., Shipp, A.M., 2010. Triclosan: a critical review of the experimental data and development of margins of safety for consumer products. *Critical Reviews in Toxicology* **2010**, *40*: 422-484.
- Sandborgh-Englund, G.; Adolfsson-Erici, M.; Odham, G.; Ekstrand, J., Pharmacokinetics of triclosan following oral ingestion in humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues* **2006**, *69*: 1861-1873.
- Suzuki, G.; Takigami, H.; Watanabe, M.; Takahashi, S.; Nose, K.; Asari, M.; Sakai, S.-i., Identification of brominated and chlorinated phenols as potential thyroid-disrupting compounds in indoor dusts. *Environmental Science and Technology* **2008**, *42*: 1794-1800.
- Wu, J. L.; Leung, K. F.; Tong, S. F.; Lam, C. W., Organochlorine isotopic pattern-enhanced detection and quantification of triclosan and its metabolites in human serum by ultra-high-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2012**, *26*: 123-132.
- Ye, X.; Zhou, X.; Furr, J.; Ahn, K. C.; Hammock, B. D.; Gray, E. L.; Calafat, A. M., Biomarkers of exposure to triclocarban in urine and serum. *Toxicology* **2011**, *286*: 69-74.

Table 1. Selected ion monitoring (SIM) used in the GC/MS analysis

| Carrier gas | Helium (head pressure 3 psi) | | |
|------------------------------|--|---------------------------|--------------|
| Injection mode | Splitless | | |
| Column | HP-5MS (30% dimethylpolysiloxane, 30 m × 0.25 mm i.d. and 0.25 µm film thickness, J&W Scientific, CA, USA) | | |
| Oven | 70 °C (1.5 min), then 20 °C/min to 230 °C (0.5 min), and then 4 °C/min to 280 °C (5 min) | | |
| Temperature | Injector (250 °C), transfer line (280 °C) | | |
| | ion source (150 °C for ECNI, 230 for EI) | | |
| Ionization mode | electron capture negative ionization | | |
| Reagent gas | Methane | | |
| Analytes | GC tr (min) | Target ion (<i>m/z</i>) | LOQ* (ng/mL) |
| HCB | 9.604 | 284 (286)** | 0.05 |
| β-HCH | 9.787 | 71 (255) | 0.35 |
| dicofof | 11.387 | 250 (252) | 0.25 |
| <i>trans</i> -nonachlor | 12.745 | 444 (446) | 0.20 |
| α-endosulfan | 12.627 | 404 (406) | 0.10 |
| ¹³ C-α-endosulfan | 12.627 | 415(417) | 0.10 |
| PCB153 | 14.216 | 360 (362) | 0.15 |
| TCS (triclosan) | 12.271 | 252 (254) | 0.32 |
| methyl-TCS | 12.404 | 266 (304) | 0.20 |
| PFB-TCS | 17.127 | 482 (484) | 0.10 |
| ¹³ C-TCS | 12.271 | 266 (268) | 0.32 |
| methyl- ¹³ C-TCS | 12.404 | 288 (290) | 0.20 |
| PFB- ¹³ C-TCS | 17.127 | 494 (496) | 0.10 |

*Limits of quantification; S/N = 10, **confirmation ion

Table 2. Concentrations (ng/mL wet) of triclosan and POPs in human serum from Japan and Korea

| | Japan (Kyoto) | | | Korea (Seoul) | | | p value |
|--------------|---------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|---------|
| | n>LOQ(%) | mean ± SD | (range) | n>LOQ(%) | mean ± SD | range | |
| age | | 52.3 ± 14.9 | (24-69) | | 34.8 ± 7.81 | (24-48) | |
| TCS | 19 (100) | 3.08 ± 1.56 | (0.97-7.73) | 19 (100) | 1.07 ± 0.66 | (0.4-3.5) | <0.001 |
| HCB | 19 (100) | 0.06 ± 0.05 | (0.01-0.18) | 19 (100) | 0.11 ± 0.15 | (0.01-0.66) | 0.160 |
| β-HCH | 19 (100) | 1.48 ± 2.28 | (0.11-8.0) | 19 (100) | 0.37 ± 1.12 | (0.02-5.0) | 0.065 |
| trans-NC | 19 (100) | 0.68 ± 0.81 | (0.13-3.73) | 19 (100) | 0.17 ± 0.10 | (0.02-0.34) | 0.001 |
| α-endosulfan | 19 (100) | 0.22 ± 0.11 | (0.07-0.50) | 18 (95) | 0.03 ± 0.03 | (<LOQ-0.15) | 0.155 |
| dicofol | 19 (100) | 0.03 ± 0.02 | (0.02-0.09) | 17 (89) | 0.01 ± 0.01 | (<LOQ-0.04) | 0.006 |
| PCB153 | 19 (100) | 1.92 ± 1.76 | (0.53-8.5) | 19 (100) | 0.40 ± 0.36 | (0.11-1.42) | 0.001 |

LOQ: Limit of quantification, SD: standard deviation; Concentrations lower than the detection limits were considered to be equal to half of the detection limit for statistical analyses.

Table 3. Spearman's rank correlation coefficients between age and concentrations of analytes in Japanese women (N=19).

| | Age | TCS | HCB | β-HCH | trans-NC | α-endosulfan | dicofol |
|--------------|----------------|----------------|-------|----------------|----------------|--------------|---------------|
| TCS | 0.267 | | | | | | |
| HCB | 0.263 | -0.069 | | | | | |
| β-HCH | 0.593** | 0.490** | 0.282 | | | | |
| trans-NC | 0.413 | 0.647** | 0.341 | 0.642** | | | |
| α-endosulfan | -0.069 | 0.123 | 0.626 | 0.056 | 0.327 | | |
| dicofol | 0.059 | 0.244 | 0.066 | 0.429 | 0.332 | 0.189 | |
| PCB153 | 0.618** | 0.675** | 0.036 | 0.674** | 0.748** | 0.005 | 0.458* |

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Table 4. Spearman's rank correlation coefficients between age and concentrations of analytes in Korean women (N=19).

| | Age | TCS | HCB | β-HCH | trans-NC | α-endosulfan | dicofol |
|--------------|--------|--------|-------|----------------|---------------|--------------|---------|
| TCS | -0.386 | | | | | | |
| HCB | 0.428 | 0.006 | | | | | |
| β-HCH | 0.107 | -0.409 | 0.005 | | | | |
| trans-NC | 0.264 | -0.194 | 0.224 | 0.764** | | | |
| α-endosulfan | -0.186 | 0.269 | 0.178 | 0.364 | 0.345 | | |
| dicofol | 0.278 | -0.420 | 0.011 | -0.011 | 0.567* | -0.066 | |
| PCB153 | 0.394 | -0.058 | 0.193 | 0.960** | 0.844* | 0.269 | 0.561 |

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

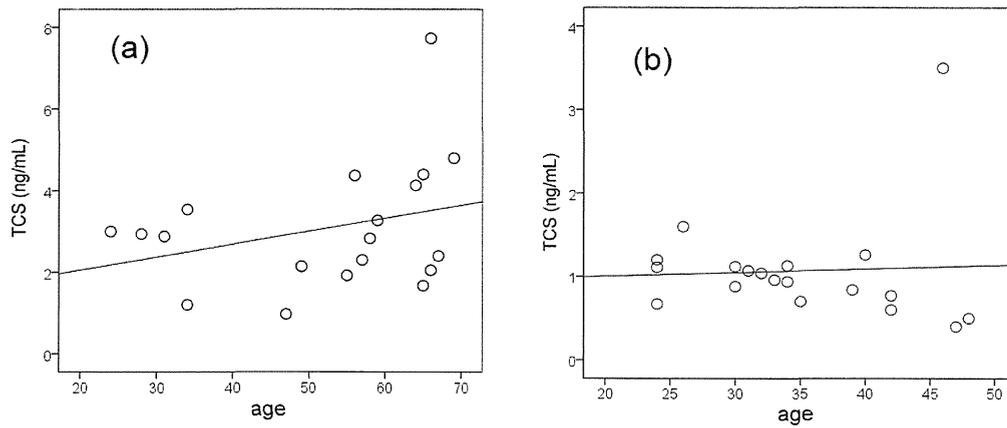


Fig. 1. Relationships between the age of females in Japan, Kyoto (a) and Korea, Seoul (b) and serum concentrations of TCS. Spearman's rank correlation coefficients, (a) $r=0.267$, $p=0.269$; (b) $r=0.386$, $p=0.102$