

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  
(4) 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長期動向調査

研究代表者 小泉 昭夫 京都大学大学院医学研究科・教授

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の経年的変化を明らかにすることを目的に、1980年前後から2010年代までの食事中、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2010年代(2011年、122ng/day)が最も高く、続いて2000年代(2003-2004年、79ng/day)、1990年代(1993年、67ng/day)、最後は1980年前後(1979年、21ng/day)であった。東北におけるPFCAsの総摂取量(C8からC14の合計、幾何平均値)も2010年代(2011年、89ng/day)が最も高く、続いて1990年代(1992年、70ng/day)、2000年代(2004年、45ng/day)、1980年前後(1981年、37ng/day)であった。このように総PFCAs摂取量は東北の2000年代を除き一貫して上昇傾向であるが、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%)。血清中濃度も同様に上昇傾向が見られ、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。食事由来の摂取量の増減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(CF<sub>3</sub>(CF<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-; 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PFCAの長期動向が明らかにされ、長鎖PFCA (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の血清中濃度の長期動向に加え、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年度の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、1980年前後から、2010年代にかけて、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7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Table1に示す。陰膳食事試料は東北地域 (宮城・福島) は1981年、1992年、2004年、2011年、関西地域 (京都・和歌山) は1979年、1993年、2003-2004年、2011年に採取された各年12-26試料の分析を行った。血清試料は東北地域 (宮城) 1981年、1997年、2003年、2011年、関西地域 (京都・和歌山) で1983年、1993年、2004-2005年、2011年に採取された各年15-30試料の分析を行った。また対象者は全て女性とした。

### 3. 分析法

新規の分析法 (平成23年度の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、分析を行った。

食事試料は約1g、血清試料は0.1mlをそれぞれ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) 0.3ml、0.5M炭酸ナトリウム緩衝液 0.6mlを加えた。チューブローターにて24時間回転混和させた後、遠心分離を行い、上清を量りとった。さらにMTBEを1ml追加し、24時間回転、遠心分離、上清を取る操作を繰り返した (計2回の抽出)。この溶液を高純度窒素気流で乾固し、1ng11H-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/5973MSD, Agilent Technologies

Japan, Ltd., Tokyo, Japan)を用いて測定した。DB-5MS (全長30m、内径0.25mm、膜厚1 $\mu$ m)のカラムで分離し、Single ion monitoringを使用し、化学イオン化陰イオンモードで分析した。試薬ガスにはメタンを用いイオン源温度は150 $^{\circ}$ Cとした。昇温条件は70 $^{\circ}$ Cで2分保持後、100 $^{\circ}$ Cまで20 $^{\circ}$ C/min、280 $^{\circ}$ Cまで30 $^{\circ}$ C/minで昇温した。Table 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 (Table2)。

### 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 $\pm$ 11%、73 $\pm$ 15%、79 $\pm$ 7%、83 $\pm$ 5%、91 $\pm$ 11%、89 $\pm$ 12%、104 $\pm$ 20%であった (Table2)。PFCAsの一日摂取量 (ng/day)をTable3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2010年代 (2011年、122ng/day)が最も高く、続いて2000年代 (2003-2004年、79ng/day)、1990年代 (1993年、67ng/day)、最後は1980年前後 (1979年、21ng/day)であった (Fig.1.上グラフ)。コンジェナー毎に見

ると、C11が1980年前後から2000年代を通じてもっとも摂取量が多かったが、2010年代はC8に抜かれている (Fig.1.下グラフ)。C8に関しては1980年前後から一貫した上昇が見られている。C13は1990年代ではC8と並ぶ摂取量があるが、2000年代、2010年代と減少傾向が確認された。C9は1980年前後から1990年代にかけて上昇し、2000年代でいったん下降後、2010年代で再び上昇している。

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)も2010年代 (2011年、89ng/day)が最も高く、続いて1990年代 (1992年、70ng/day)、2000年代 (2004年、45ng/day)、1980年前後 (1981年、37ng/day)であった (Fig.1.上グラフ)。コンジェナー毎に見ると、C11が全年代を通じてもっとも摂取量が高かった (Fig.1.下グラフ)。C11は1980年前後から1990年代にかけて上昇し、2000年代でいったん下降後、2010年代で再び上昇している。同様の傾向は他のコンジェナーではC8、C13で見られた。

#### 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 $\pm$ 12%、94 $\pm$ 8%、87 $\pm$ 6%、95 $\pm$ 7%、96 $\pm$ 5%、99 $\pm$ 6%、106 $\pm$ 7%であった (Table2)。血清中のPFCAs濃度の測定結果はTable4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2010年代 (2011年、15.2ng/ml)が最も高く、続いて2000年代 (2004-2005年、10.2ng/ml)、1990年代 (1993年、60.4ng/ml)、最後は1980年前後 (1979年、29.1ng/ml)であ

った (Fig.1.上グラフ)。コンジェナー毎に見ると、C8が全年代を通じてもっとも高く、続いてC9であった (1993年を除く) (Fig.2.下グラフ)。全年代を通じてC8が全PFCA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PFCA濃度 (C8からC14の合計、幾何平均値) は1980年代 (1981年、0.4ng/ml) が最も低く、続く1990年代では約13倍に増加していた (1992年、5.2ng/ml)。その後の2000年代 (2003年、69.9ng/ml)、2010年前後 (2007年、67.6ng/day) は大きな上昇は見られなかった (Fig.2.上グラフ)。コンジェナー毎に見ると、関西と同様にC8が全年代を通じてもっとも高かったが、続いて高いのは関西とは異なりC11であった (Fig.2.下グラフ)。またC8についても関西とは異なり2004年から2011年にかけて減少が見られた。

#### D. 考察

##### 1. 耐容一日摂取量との比較

本研究では、食事中PFCA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PFCA総摂取量は1482ng/day (内PFOA; 100ng/day) であった (2011年京都の採取試料)。2014年現在まで長鎖を含むPFCAの体重あたりの耐容一日摂取量 (TDI) は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%であり、十分に下回る結果であった。

##### 2. 食事由来のPFCA摂取量と・血清中濃度との関連

米国3M社の2002年のC8 PFOA製

造中止以降、米国では成人血中のC8が25%減少し (Calafat et al. 2007)、特定汚染源を持つとされる大阪市でも同様にC8血中濃度は減少が確認されている (Harada et al. 2011)。しかしながら本研究ではそのC8について、関西地方の対象集団において2003-2004年から2011年においても継続した増加が確認された。一方東北では2004年から2011年にかけてC8の減少が見られるもののC8からC14までを合計した総PFCA濃度では両方の地域で増加傾向である。食事中のPFCAも2004年の宮城を除き増加傾向であった。食事経路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を例にとると食品から摂取量されたPFCAから計算される血清中濃度から以下ようになる。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、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、食品経路のPFCA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2010年代は6.2ng/ml、2000年代は2.9ng/ml、1990年代で1.8ng/ml、1980年前後で0.5ng/mlであり、東北で2010年代は2.1ng/ml、2000年代は0.7ng/ml、1990年代で1.3ng/ml、1980年代で0.4ng/mlであった。この値はTable4の実際の血清中のC8の測定値と近く、1981年の宮城を除き血清中のC8は3割から9割が食事由来であると推測できる。近年PFCA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、1980年前後から、2010年代にかけて、食事試料と血清試料中に含まれるPFCAの測定を行い、日本におけるPFCAの食事を通じた摂取量と血清中濃度の長期動向を明らかにした。その結果、総PFCA摂取量は2000年代の東北を除いて上昇傾向であるが、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。血清中濃度も同様に上昇傾向が見られ、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。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表・その他

藤井由希子、小林果、新添多聞、原田浩二、人見敏明、小泉昭夫、関西の血清中ペルフルオロアルキルカルボン酸 (PFCA) の経年変化 (1980-2010年代)、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.

Table 1 Study area and study population

Sample type	Study Area	Year	City	N (All females)	Age	
					Mean (SD)	Range
Diet	Kansai	1979	Wakayama	15	52.0 (11.6)	35-69
		1993	Kyoto	25	53.7 (4.0)	47-61
		2003, 2004	Kyoto	18	51.8 (21.1)	21-76
		2011	Kyoto	18	66.0 (4.9)	57-75
	Tohoku	1981	Miyagi	18	44.8 (8.6)	31-57
		1992	Miyagi	12	52.9 (10.8)	31-68
		2004	Miyagi	16	21.5 (0.5)	21-22
		2011	Fukushima	26	55.1 (13.0)	30-79
Serum	Kansai	1983	Kyoto	15	43.7 (3.2)	40-50
		1993	Kyoto	30	44.1 (3.0)	40-50
		2004, 2005	Kyoto, Wakayama	30	37.7 (11.9)	24-63
		2011	Kyoto	30	57.1 (14.3)	23-69
	Tohoku	1981	Miyagi	27	45.3 (8.2)	33-57
		1997	Miyagi	30	20.9 (1.2)	19-23
		2003	Miyagi	30	45.2 (8.6)	30-59
		2007	Miyagi	30	42.8 (9.9)	23-59

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>				
				PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)
Kansai	1979 (n=15)	Wakayama	% of detection	73	40	67	67	33
			Median (Range)	2.6(0.4-9.8)	0.7(0.4-8.9)	2.5(0.9-7.9)	9.6(2.6-24.1)	0.6(0.4-14.3)
			Mean±SD	3.7±3.0	2.1±2.5	3.2±2.2	10.7±7.7	3.3±4.5
			GM	2.4	1.2	2.5	8.0	1.3
	1993 (n=25)	Kyoto	% of detection	92	96	64	92	60
			Median (Range)	11.7(0.6-27.8)	8.6(0.7-22.8)	3.4(0.8-33.7)	27.3(3.3-69.6)	2.3(0.3-15.3)
			Mean±SD	12.8±8.1	9.9±5.2	4.3±6.3	28.2±18.9	3.6±3.9
			GM	9.3	8.3	2.8	21.0	2.0
	2003-2004 (n=18)	Kyoto	% of detection	100	78	61	83	56
			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)
			Mean±SD	18.9±16.3	7.8±8.3	7.5±10.2	50.1±67.0	9.1±12.6
			GM	14.6	3.9	3.2	20.5	2.4
2011 (n=18)	Kyoto	% of detection	100	100	89	83	44	
		Median (Range)	31.2(14.6-99.5)	12.8(3.5-379.5)	6.3(0.9-603.2)	32.5(2.5-336.5)	1.0(0.5-67.6)	
		Mean±SD	34.6±18.9	35.2±86.5	41.7±140.3	68.2±92.0	14.1±20.1	
		GM	31.2	15.2	8.2	29.6	3.5	
Tohoku	1981 (n=18)	Miyagi	% of detection	56	67	11	67	83
			Median (Range)	2.5(0.6-10.3)	7.0(0.5-24.4)	1.5(1.0-14.7)	9.2(2.7-24.6)	4.3(0.5-27.0)
			Mean±SD	3.5±3.2	8.8±8.3	2.3±3.1	10.6±7.0	6.2±6.9
			GM	2.2	4.3	1.7	8.6	3.9
	1992 (n=12)	Miyagi	% of detection	83	83	92	83	67
			Median (Range)	9.0(0.6-21.0)	6.9(0.6-26.2)	7.1(1.0-14.1)	28.4(2.9-98.5)	6.0(0.6-26.4)
			Mean±SD	9.2±6.3	10.4±9.4	7.0±4.1	32.7±27.9	8.1±8.9
			GM	6.4	5.9	5.7	20.9	3.9
	2004 (n=16)	Miyagi	% of detection	81	88	94	88	38
			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)
			Mean±SD	5.7±4.5	8.2±5.1	4.6±1.9	16.3±11.6	6.8±18.0
			GM	3.5	5.8	4.1	12.5	1.5
2011 (n=26)	Fukushima	% of detection	96	92	58	81	65	
		Median (Range)	8.0(0.6-217.6)	6.5(0.6-239.5)	4.6(0.7-43.3)	31.0(3.2-182.3)	11.8(0.4-61.0)	
		Mean±SD	21.9±42.1	19.2±46.2	8.5±10.3	58.0±59.7	16.4±17.8	
		GM	10.5	7.5	4.2	28.3	6.0	

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 ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )

Area	Year (No. of pooled diets)	City		$\text{ng day}^{-1}$				
				PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDODA (C12)
Kansai	1983 (n=15)	Wakayama	% of detection	100	100	100	100	80
			Median (Range)	1475(220-7098)	331(141-2498)	150(80-707)	311(164-1646)	45(0-269)
			Mean $\pm$ SD	2274 $\pm$ 2222	736 $\pm$ 813	218 $\pm$ 174	496 $\pm$ 425	53 $\pm$ 65
			GM	1580	454	175	377	17
	1993 (n=30)	Kyoto	% of detection	100	100	100	100	100
			Median (Range)	3169(1082-9894)	991(260-1925)	423(93-1770)	1086(279-2899)	84(17-216)
			Mean $\pm$ SD	3777 $\pm$ 2137	1017 $\pm$ 459	546 $\pm$ 369	1272 $\pm$ 694	94 $\pm$ 52
			GM	3183	887	430	1066	80
	2004-2005 (n=30)	Kyoto	% of detection	100	100	100	100	90
			Median (Range)	5051(2153-35337)	1864(571-9701)	609(178-3603)	1337(224-9040)	96(0-1401)
			Mean $\pm$ SD	7051 $\pm$ 6325	2430 $\pm$ 2197	854 $\pm$ 730	1697 $\pm$ 1590	157 $\pm$ 246
			GM	5694	1899	697	1379	67
2011 (n=30)	Kyoto	% of detection	100	100	100	100	100	
		Median (Range)	8504(1610-16837)	3759(867-11384)	1123(243-7587)	2033(499-4998)	144(31-527)	
		Mean $\pm$ SD	9075 $\pm$ 4230	4123 $\pm$ 2532	1419 $\pm$ 1389	2144 $\pm$ 1047	172 $\pm$ 99	
		GM	7914	3451	1057	1896	147	
Tohoku	1981 (n=27)	Miyagi	% of detection	100	96	100	100	19
			Median (Range)	175(60-654)	54(0-335)	26(4-54)	139(71-246)	0(0-46)
			Mean $\pm$ SD	195 $\pm$ 116	73 $\pm$ 87	27 $\pm$ 11	143 $\pm$ 43	5 $\pm$ 12
			GM	171	45	24	140	1
	1997 (n=30)	Miyagi	% of detection	100	100	100	100	100
			Median (Range)	2237(1134-10531)	849(335-3332)	378(206-1295)	1203(593-2845)	84(46-229)
			Mean $\pm$ SD	2586 $\pm$ 1659	1043 $\pm$ 699	410 $\pm$ 191	1242 $\pm$ 454	99 $\pm$ 41
			GM	2292	885	377	1163	92
	2003 (n=30)	Miyagi	% of detection	100	100	100	100	100
			Median (Range)	2523(1147-5858)	1114(396-2631)	421(191-767)	1418(748-3108)	93(13-231)
			Mean $\pm$ SD	2703 $\pm$ 1115	1178 $\pm$ 434	443 $\pm$ 131	1598 $\pm$ 622	107 $\pm$ 57
			GM	2499	1103	424	1490	90
2007 (n=30)	Miyagi	% of detection	100	100	100	100	77	
		Median (Range)	2185(686-6382)	1655(656-3906)	549(200-1161)	1662(589-5053)	124(0-465)	
		Mean $\pm$ SD	2617 $\pm$ 1364	1771 $\pm$ 837	633 $\pm$ 304	2053 $\pm$ 1201	143 $\pm$ 119	
		GM	2314	1585	555	1714	36	

SD: standard deviation; GM: geometric mean;

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

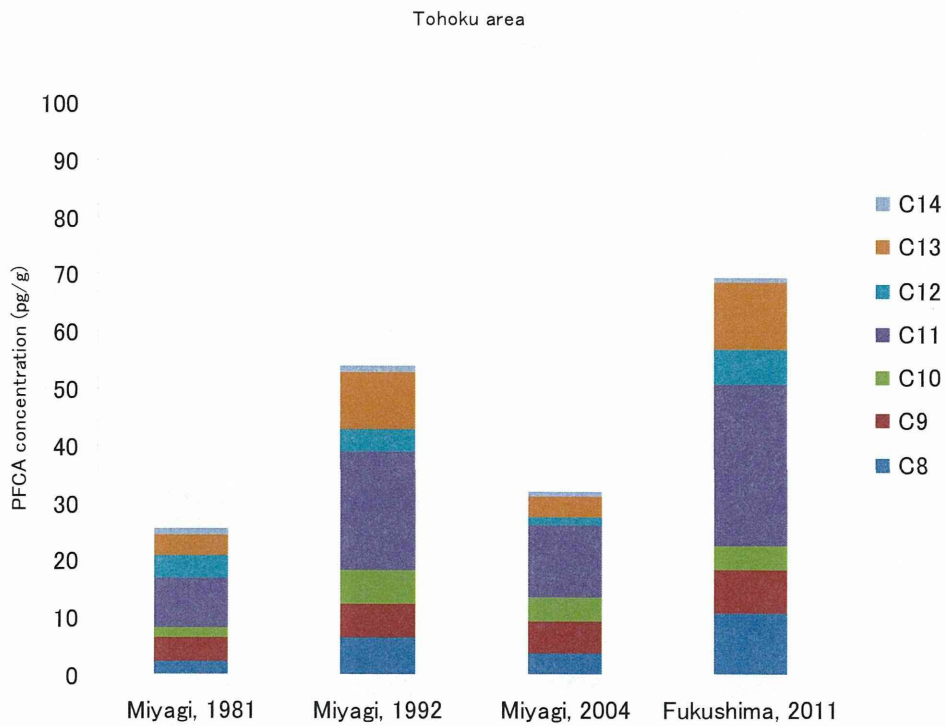
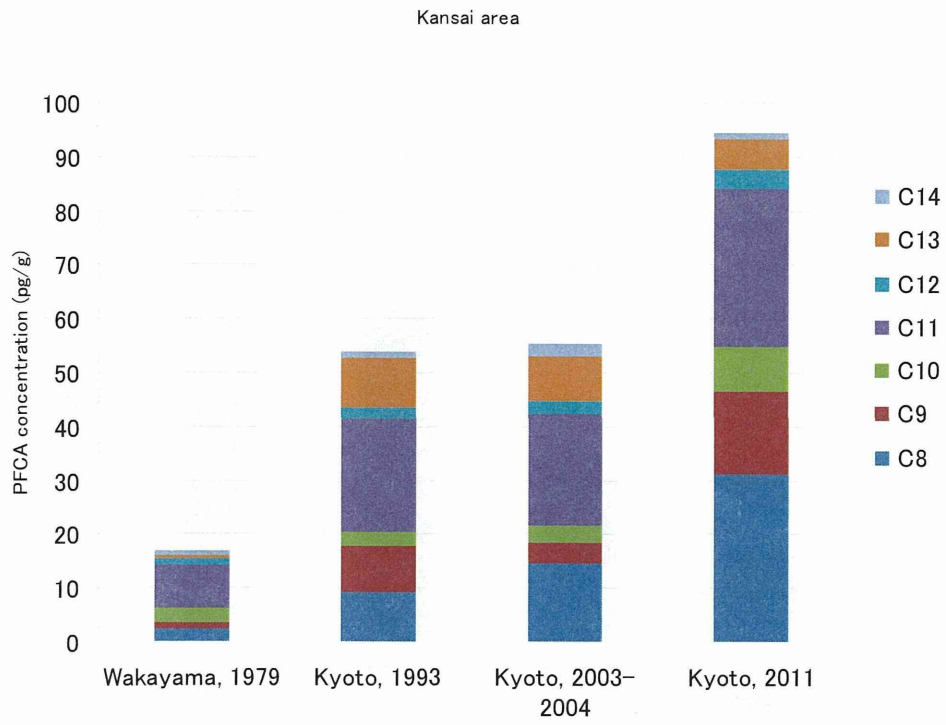


Figure 1. Profile and trend of PFCA levels in food samples

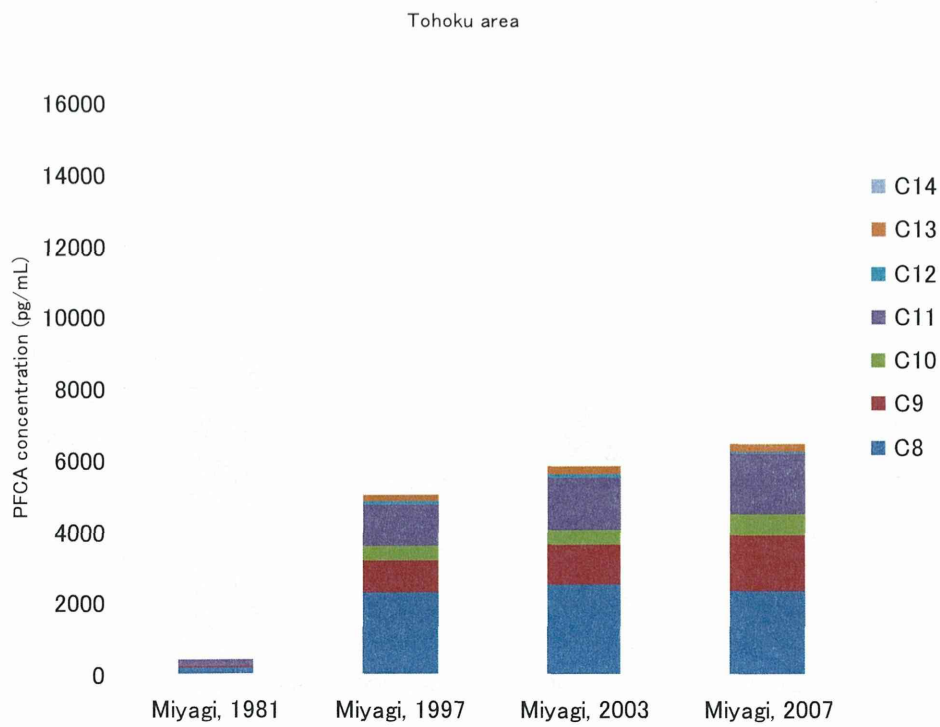
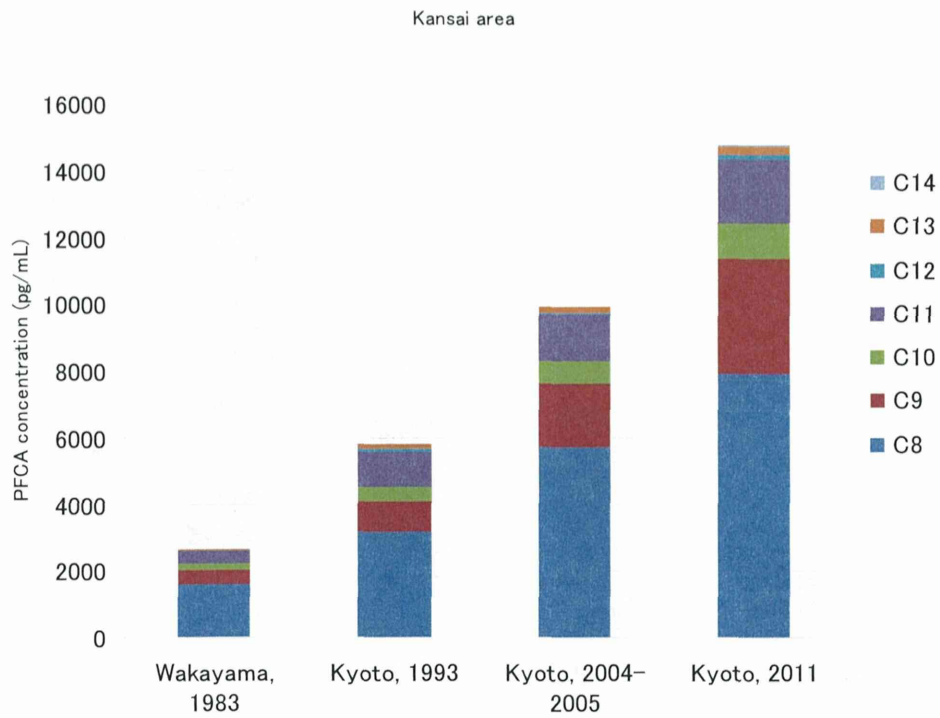


Figure 2. Profile and trend of PFCA levels in serum samples

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

(5) 炭素鎖の異なる有機フッ素カルボン酸と魚類摂取に由来する不飽和脂肪酸との関連の検討

研究代表者 小泉 昭夫 京都大学大学院医学研究科・教授

研究要旨

ヒト血清には PFOA のほか、長鎖 PFCA<sub>s</sub> が認められるが、その濃度を規定する因子は不明である。本研究では京都の健常者 131 名の血清中 PFCA<sub>s</sub> と n-3 系不飽和脂肪酸を同時定量した。単変量解析では、魚介類摂取のバイオマーカーであるエイコサペンタエン酸/アラキドン酸比と PFOA、PFNA、PFUnDA は正の相関を示した。年齢、性別をさらに調整し、共分散分析を行っても有意な因子であった。

A. 研究目的

有機フッ素化合物は界面活性剤、フッ素樹脂製造の添加剤として用いられてきた。残留性のほか、疫学研究で出生体重の低下が示唆されるなど懸念が示されている。米国 3M 社が製造を 2002 年から中止した後、米国では成人血中 PFOS 濃度が 60%、PFOA 濃度が 25% 減少したと報告された (Olsen et al., 2008)。近年ペルフルオロオクタノ酸 PFOA(C8) 以外の長鎖 PFCA 類 (C9-C13) の血中での増加が認められた (Harada et al., 2011)。長鎖 PFCA<sub>s</sub> の濃度を規定する因子は不明である。そのため、本研究では血清中 PFCA<sub>s</sub> と魚介類摂取の生物学的指標である n-3 系多価不飽和脂肪酸との関連を検討した。

B. 研究方法

2013 年の京都在住の成人 131 名の血清試料を京都大学生体試料バンクから選択した (Koizumi et al., 2009)。

試料 0.5mL に 0.5M テトラブチルアンモニウム塩水溶液 (pH10) 0.5mL、サロゲート標準溶液 (PFC-MXA, Wellington Laboratories; Docosaheptaenoic Acid-d5, Cayman Chemical) を加え、1 mL の methyl t-butyl ether (MTBE) で抽出し、再度 1 mL MTBE で抽出した。有機層を乾固させ、PFCA<sub>s</sub> は 0.1M 臭化ペンタフルオロベンジル / 0.1M 18-Crown-6 アセトン溶液、炭酸水素カリウム粉末 1 片、内部標準溶液 11H-PFUnDA を加えて、60℃ で 60 分間加熱して、ペンタフルオロベンジルエステル誘導体とした。Agilent 6890GC/5973MSD inert で、HP-5MS を用いて分離し、化学イオン化 (メタンガス、負イオン化モード) で測定した。測定対象の脂肪酸類は全て [M-C<sub>7</sub>H<sub>2</sub>F<sub>5</sub>]<sup>-</sup> により定量した。

C. 研究結果

分析値の要約を表 1 に示す。C8、

C9、C10、C11 が全ての試料で検出された。C8 より鎖長の長い PFCAs が全 PFCAs の 50%以上を占めており、以前の報告と同様の結果となった。また奇数鎖 C9、C11、C13 が偶数鎖 C10、C12 より高かった。

血清中 PFCAs 濃度と関連する因子について検討を行った。性別で有意な差は見られなかった (表1)。単変量解析では、年齢との相関は C8、C9、C10、C11、C12 で有意になった (図1)。魚介類摂取のバイオマーカーであるエイコサペンタエン酸/アラキドン酸比 (EPA/AA) と C8、C9、C10、C11、C12 は正の相関を示した (図2)。EPA/AA は年齢と相関していたため年齢、性別をさらに調整し、共分散分析を行っても EPA/AA と C8、C9、C11、C12 との間に有意な相関が認められた。

#### D. 考察

PFCAs、特に長鎖 PFCAs は陰膳食事で検出され、食事が主要な曝露源であると考えられる (Fujii et al., 2012)。生物濃縮性の高い長鎖 PFCAs は魚類に比較的蓄積し、食事からの摂取に占める割合が高くなっている可能性がある。

#### E. 結論

健康な男女血清中 PFCAs 濃度と魚介類摂取の生物学的指標 EPA/AA 比は有意な相関を示した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表・その他

原田浩二、藤井由希子、趙山、大島匡

世、大澤めぐみ、巖俊霞、藤原登司一、新添多聞、小林果、人見敏明、小泉昭夫、ヒト血清中ペルフルオロアルキルカルボン酸と n-3 系不飽和脂肪酸との関連、第23回日本環境化学会討論会 (2014年5月14-16日 京都)

#### 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

Fujii Y, Harada KH, Koizumi A. Analysis of perfluoroalkyl carboxylic acids in composite dietary samples by gas chromatography/mass spectrometry with electron capture negative ionization. *Environ Sci Technol* 2012;46:11235-42.

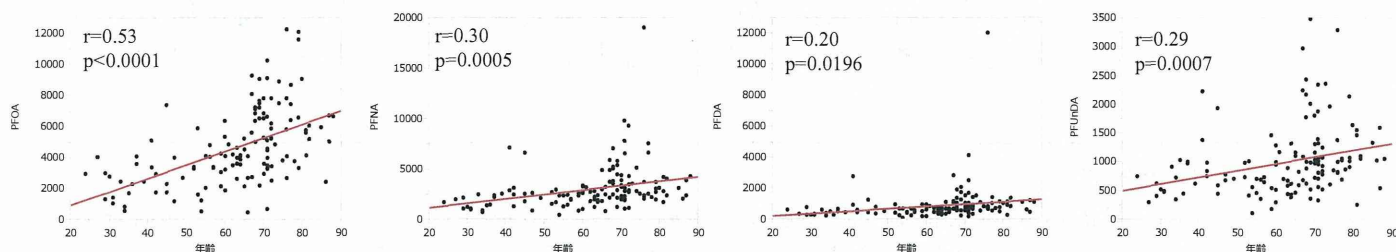
Harada KH, Hitomi T, Niisoe T, Takenaka K, Kamiyama S, Watanabe T, Moon CS, Yang HR, Hung NN, Koizumi A. Odd-numbered perfluorocarboxylates predominate over perfluorooctanoic acid in serum samples from Japan, Korea and Vietnam. *Environ Int* 2011;37:1183-9.

Koizumi A, Harada K, Inoue K, Hitomi T, Yang HR, Moon CS, Wang P, Hung N, Watanabe T, Shimbo S, Ikeda M. Past, present, and future of environmental specimen banks. *Environ Health Prev Med* 2009;14:307-18.

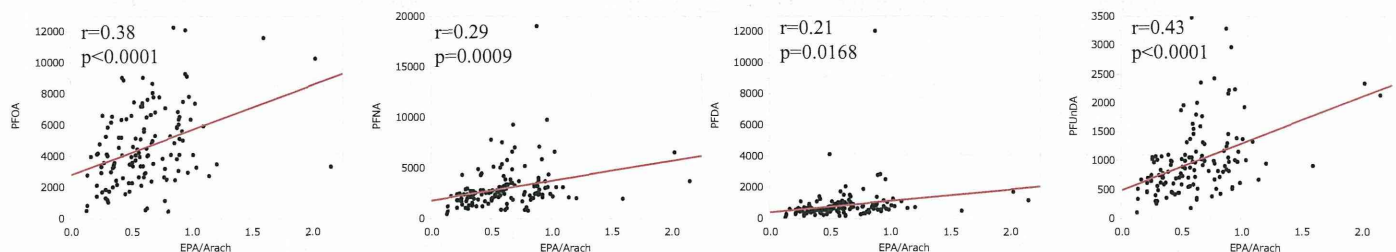
Olsen GW, Mair DC, Church TR, Ellefson ME, Reagen WK, Boyd TM, Herron RM, Medhdizadehkashi Z, Nobilette JB, Rios JA, Butenhoff JL, Zobel LR. Decline in perfluorooctanesulfonate and other polyfluoroalkyl chemicals in American Red Cross adult blood donors, 2000-2006. *Environ Sci Technol* 2008;42:4989-95.

**Table 1. Serum concentrations of PFCAs in Kyoto, Japan in 2013**

	n	Mean±SD Median	Age (yr) Concentration (pg mL <sup>-1</sup> )								
			PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTTrDA	PFTeDA	
Total	131	63±15 67	63±30	4626±2449	3020±2202	869±1132	998±602	141±79	191±72	17±113	
Male	37	60±18 66	61±37	4102±2629	3022±3025	1024±1968	920±568	131±67	203±101	26±150	
Female	94	64±14 68	64±27	4832±2358	3019±1799	808±529	1029±615	144±83	187±57	14±95	



**Fig. 1. Association between serum PFCAs concentrations and age of donors.**



**Fig. 2. Association between serum PFCAs concentrations and eicosapentaenoic acid/arachidonic acid ratio.**

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

系統的持続的な試料の収集と他機関への試料の提供

研究代表者	小泉 昭夫	京都大学大学院医学研究科・教授
研究分担者	原田 浩二	京都大学大学院医学研究科・准教授
研究分担者	小林 果	京都大学大学院医学研究科・特定助教
研究協力者	人見 敏明	京都大学大学院医学研究科・特定研究員
研究協力者	新添 多聞	京都大学大学院医学研究科・特定研究員

研究要旨

化学物質曝露を評価し、過去の曝露と現在の曝露を評価するための試料を採取した。京大生体試料バンクへ成人男女の尿検体294検体を収納、登録した。

また他機関へ、尿試料102検体（1990年代～2010年）、陰膳食事試料55検体（2011年）、血清試料120検体（2007年～2010年）の提供を試料バンクから行った。

試料の利用を促進するため、環境化学研究者が参加する学術集会でフォーラムを行った。

A. 研究目的

POPs のリスク評価に向けたヒト曝露の長期モニタリングのための試料バンクの創設が 2003 年に行われた。以降、試料の継続的な収集が続いている。今年度は生物学的モニタリングを実施するため、国内の成人男女を対象に尿試料を収集し、ヒト生体試料バンクに収納・登録した。

バンクの試料は他機関の研究者の申請に応じて、提供を行ってきた。

また試料の利用を推進するため、環境化学研究者が参加する学術集会でフォーラムを行った。

B. 研究方法

京都大学大学院医学研究科・医学部および医学部附属病院 医の倫理委員会より、E25「POPs のリスク評価

に向けてのヒト曝露長期モニタリングのための試料バンク創設に関する研究」の研究計画の承認を得て、本研究は実施された。

尿試料

尿試料は、これまでの継続性を考慮して、京都府京都市、宇治市にて収集した。京都府ではこれまでに 1990 年代、2000 年代にかけて血清試料および食餌試料に加えて、尿試料も収集されている。以上の点から採取対象地域とした。大学生、市民を対象とした健康推進企画において、研究の趣旨を説明して、協力を前向きな参加者に、対面での口頭説明を加え、同意書に書面にて同意を頂いた方を対象とした。

またこの際にこれまでの研究の成果についても紹介する講演を行った。

### 他機関への試料の提供

食事からの農薬摂取を評価する目的で、名古屋大学へ尿試料 102 検体（1990 年代～2010 年）を提供した。

食事からの臭素系難燃剤の摂取を評価するため、血清試料 120 検体（2007 年～2010 年）を第一薬科大学に提供した。

食事からの塩素系農薬の摂取を評価するため陰膳食事試料 55 検体（2011 年）を大阪府立公衆衛生研究所に提供した。

### バンクの利用の促進

2014 年 5 月 15 日に京都大学で開催された第 23 回日本環境化学会討論会において、京都大学生体試料バンク：現在までの成果と現状および将来についてのフォーラムを行った。

## C. 研究結果

### 試料の収集

平成 26 年度を通じて、京都市、宇治市において尿試料 294 検体を収集した。

### 他機関への試料の提供

第一薬科大学に提供した血清試料 120 検体（2007 年～2010 年）の分析結果は本報告書に記載した。

名古屋大学へ提供した尿試料 102 検体（1990 年代～2010 年）は分析が完了した。

大阪府立公衆衛生研究所へ提供した陰膳食事試料 55 検体（2011 年）は分析が進行中である。

### バンクの利用の促進

フォーラムで紹介し、利用の問い合わせが 3 件あり、1 件は提供を実施し、他の問い合わせについては詳細につ

いて検討を行っている。

## D. 考察

国内での血液、母乳、食事、尿の各検体の採取は 2003 年度の試料バンク創設からほぼ同一方法で行われた。2014 年度の試料収集ではこれまでの対象地域で継続することを基本とした。協力機関への依頼、参加が得られ、当初の目標通りに収集がなされた。

尿試料は生物学的モニタリングにより食事試料からのデータを補完する目的で採取されており、一定の年齢層を対象に提供を依頼し、当初の予定の通り収集できた。

検体の収集に当たってはこれまで生体試料バンクに収集された試料を考え、それに相応する機関、個人に協力をお願いしたことで、試料のほとんどが目標通りに実施できたことが確かめられた。また、倫理面にも十分に対応を施した検体収集を進めることができた。

また各汚染物質の専門的分析を行う他機関に試料を提供することで食の安全に関する研究の推進に資することができた。

拡充された試料バンクは食品衛生、環境保健研究者へ提供できると期待される。

## E. 結論

初期の全体計画に沿って尿 294 検体が収集された。検体収集にはそれぞれの専門的な機関に全面的な協力を得て実施できた。その結果、将来のモニタリングの土台となる試料収集と収納および関連するライフスタイル情報が収載できた。

他機関へ、陰膳食事試料 55 検体、尿試料 102 検体、血清試料 120 検体の提供を試料バンクから行った。



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

小泉昭夫、京都大学生体試料バンク：現在までの成果と現状および将来、第 23 回 日本環境化学会討論会、

(2014 年 5 月 14-16 日 京都大学)  
上山純、原田浩二、杉浦友香、大坂彩、小泉昭夫、上島通浩、日本人における尿中殺虫剤曝露指標濃度の年次推移、第 85 回日本衛生学会 (2015 年 3 月 26-28 日 和歌山)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

なし

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

#### 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

#### 雑誌

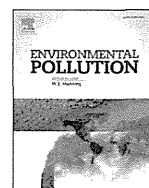
発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fujii, Y.; Sakurada, T.; Harada, K. H.; Koizumi, A.; Kimura, O.; Endo, T.; Haraguchi, K.	Long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in Pacific cods from coastal areas in northern Japan: A major source of human dietary exposure	Environ Pollut	199	35-41	2015
Fujii, Y.; Niisoe, T.; Harada, K. H.; Uemoto, S.; Ogura, Y.; Takenaka, K.; Koizumi, A.	Toxicokinetics of perfluoroalkyl carboxylates with different carbon chain lengths in mice and humans.	J Occup Health	57(1)	1-12	2015
Zhao, C.; Fujii, Y.; Yan, J.; Harada, K. H.; Koizumi, A.	Pentafluorobenzyl esterification of haloacetic acids in tap water for simple and sensitive analysis by gas chromatography/mass spectrometry with negative chemical ionization.	Chemosphere	119	711-718	2015
Yan JX, Inoue K, Asakawa A, Harada KH, Watanabe T, Hachiya N, Koizumi A.	Methylmercury Monitoring Study in Karakuwacho, a Peninsula Area in Japan	Bull. Environ. Contam. Toxicol.	93(1)	36-41	2014

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷



Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Pollution

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/envpol](http://www.elsevier.com/locate/envpol)

# Long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in Pacific cods from coastal areas in northern Japan: A major source of human dietary exposure



Yukiko Fujii <sup>a</sup>, Tsukasa Sakurada <sup>a</sup>, Kouji H. Harada <sup>b</sup>, Akio Koizumi <sup>b</sup>, Osamu Kimura <sup>c</sup>, Tetsuya Endo <sup>c</sup>, Koichi Haraguchi <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Daiichi University of Pharmacy, Tamagawa-cho, Minami-ku, Fukuoka 815-8511, Japan

<sup>b</sup> Department of Health and Environmental Sciences, Kyoto University Graduate School of Medicine, Yoshida Konoe, Sakyo, Kyoto 606-8501, Japan

<sup>c</sup> School of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido, 1757 Kanazawa, Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-0293, Japan

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 14 October 2014

Received in revised form

27 December 2014

Accepted 5 January 2015

Available online 22 January 2015

### Keywords:

Perfluoroalkyl carboxylic acids

Perfluorooctanoic acid

Sea fish

Japan

Human dietary intake

## ABSTRACT

This study investigates perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs) contamination of edible fish muscle from Japanese coastal waters. The concentrations of PFCAs with 8–14 carbon atoms (C8–C14) in Pacific cods in Hokkaido, Japan were 51 (median: pg/g-wet weight) for C8, 93 for C9, 99 for C10, 746 for C11, 416 for C12, 404 for C13, and 93 for C14. The levels of C9–C14 PFCAs in fish were strongly correlated to each other, but not to C8 and the other chlorinated persistent organic pollutants, indicating that C9–C14 PFCAs have a different emission source and/or bioaccumulation mechanism. The relative ratios between estimated PFCAs intake through fish consumption and the reported total dietary exposure of PFCAs were less than 1 for C8 to C9, but were more than 1 for C10 to C14. This result strongly suggests that fish consumption is a significant source of human dietary exposure to C10–C14 PFCAs.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Perfluorochemicals (PFCs) such as perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA or C8), containing both hydrophobic and hydrophilic regions, have been used as surface tension depressants in the manufacturing industry. Then, they entered the environment and have been detected in human serum. A major manufacturer, 3M Company, phased out PFOS production in 2002 (Renner, 2001). Consequently, temporal trends have

revealed decreases in the human serum levels of both PFOS and PFOA since 2000 (Haug et al., 2009; Olsen et al., 2007). In contrast, levels of perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs) with carbon chains longer than eight (>C8) have continued to increase in human serum in East Asia and Sweden (Glynn et al., 2012; Harada et al., 2011).

The relative importance of different exposure pathways of PFCs for humans is still under debate (Vestergren et al., 2012). In Sweden, intake of contaminated fish from the Baltic Sea has been suggested to contribute significantly to blood PFOS levels in humans (Berger et al., 2009). So far, however, most marine biota monitoring studies have focused on inedible parts of marine organisms, such as the liver, as a target organ for PFC accumulation (Hart et al., 2008; Houde et al., 2006) and on freshwater fish (Hloušková et al., 2013; Murakami et al., 2011). Very little is known about the levels of long-chain PFCAs in edible sea fish in Japan, despite the fact that the Japanese diet is mostly composed of sea fish. Additionally, there is no information on the relationship between the concentrations of PFCAs and other lipophilic persistent organic pollutants (POPs) in edible fish.

The aim of the present study was therefore to assess the contribution of sea fish consumption to human PFCA exposure. To this purpose, we investigated the levels of PFCA (C8–C14) from edible Pacific cod in Hokkaido. The seawaters of Hokkaido are one

**Abbreviations:** PFCAs, perfluoroalkyl carboxylic acids; PFOS, perfluorooctane sulfonate; PFOA or C8, perfluorooctanoic acid; PFNA or C9, perfluorononanoic acid; PFDA or C10, perfluorodecanoic acid; PFUnDA or C11, perfluoroundecanoic acid; PFDoDA or C12, perfluorododecanoic acid; PFTeDA or C13, perfluorotridecanoic acid; PFTeDA or C14, perfluorotetradecanoic acid; IDLs, instrumental detection limits; MDLs, method detection limits; RSD, relative standard deviation; SD, standard deviation; GM, geometric mean; GSD, geometric standard deviation; DDT, dichlorodiphenyltrichloroethane; HCB, hexachlorobenzene; PCB, Polychlorinated biphenyls; *trans*-NC, *trans*-nonachlor;  $\beta$ -HCH, beta-hexachlorocyclohexane; POPs, persistent organic pollutants; DDE, dichlorodiphenyldichloroethylene; PCA, principal component analysis.

\* Corresponding author. Daiichi University of Pharmacy, Tamagawa-cho, Minami-ku, Fukuoka 815-8511, Japan.

E-mail address: [k-haraguti@daiichi-cps.ac.jp](mailto:k-haraguti@daiichi-cps.ac.jp) (K. Haraguchi).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.007>

0269-7491/© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.