

図3. 食事試料におけるDechlorane 602(8.0 min)と¹³C標識Dechlorane 605(9.6 min)のクロマトグラム

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）
総合研究報告書 資料5

京都の食事試料におけるフェノール性臭素化合物の残留調査と経年変化

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 京都大学大学院医学研究科・大学院生

研究要旨

本研究では、日本人の食事に汚染が懸念される物質のうち、フェノール性ハロゲン化合物 (tribromophenol, tetrabromobisphenol A, pentachlorophenol, hydroxyl-PBDE) の食事からの摂取量の経年変化を古典的 POPs (DDTs, HCHs, CHLs, HCB) および新規 POPs 関連物質 (endosulfan および dicofol) と比較した。1993 年、2004 年および 2011 年に京都地域において陰膳方式で収集した食事ホモジネートを用いた。古典的 POPs の 2011 年の一日摂取量は 1993 年の約 49% と推定され、また dicofol や endosulfan の摂取量にも減少傾向を示した。一方、フェノール性臭素系難燃剤である tribromophenol はすべての食事から検出されたが、摂取量の経年減少傾向は見られなかった。tetrabromobisphenol A は 1993 年の食事 3 検体、2004 年の食事 4 検体、2011 食事 1 検体で検出された。フェノール性農薬 pentachlorophenol は 1993 年の 19.8 ng/day から 2011 年の 4.0 ng/day に減少した。水酸化 PBDE として 6-OH-BDE47 が 11 検体から検出されたが、そのメトキシ体のほうがより高濃度で検出され、推移に方向性は見られなかった。新規に 2',6-dimethoxy-BDE68 とその脱メチル化体を 2004 および 2011 年の食事から検出した (最大摂取量 4780 ng/day)。これらのフェノール性成分と残留農薬の摂取量との相関性を示すデータは得られなかった。

A. 研究目的

食品への汚染が懸念される新規 POPs や POPs 候補物質として endosulfan、pentachlorophenol (PCP)、2,4,6-tribromophenol (TBP)、tetrabromobisphenol A (TBBPA)、さらに polybrominated diphenyl ether (PBDE) の水酸化体 (OH-PBDE) が挙げられる。このような残留農薬やフェノール性ハロゲン化合物は内分泌かく乱性、神経発達毒性、免疫毒性を有し、胎盤や母乳を通じ胎児 (乳児) への移行が報

告されている (Meerts et al 2000; Kawashiro et al 2008)。

フェノール性難燃剤である TBP および TBBPA は紙類・プラスチック・電気製品に添加剤として現在最もよく使われている (Watanabe and Sakai, 2003)。これらは物理化学的性質が PBDE と類似しており、環境生物中でも検出されている。しかし、それらの食品汚染およびヒトの摂取量に関するデータは少ない。

一方、PCB や PBDE は、ヒト体内で

水酸化体に代謝され、生体内に残留し悪影響を及ぼすことも考えられる。最近、環境中にhydroxy-PBDEが検出されているが、その発生源や挙動については不明な点が多い。また、環境中でPCPやTBPなどのフェノール性ハロゲン化合物は、脂溶性の高いメチル化体に変換され体内に取り込まれ、体内曝露量が増すことも考えられる。

本研究の目的は、食品に汚染が懸念される化学物質のうち、フェノール性臭素化合物を中心に汚染実態を明らかにし、摂取量の過去20年間の推移を明らかにすることである。そこで京都地域において陰膳方式で収集した食事を用いて、1993、2004および2011年の時点での汚染実態と汚染物質の摂取量の経年変化を調べた。分析対象は、古典的POPs 4種 (DDTs, CHLs, HCHs, HCB)、POPs 関連物質 (dicofol, endosulfan)、フェノール性農薬 (PCP)、フェノール性難燃剤 (TBP および TBBPA)、水酸化PBDE (6-hydroxy-BDE47) およびそのメトキシ体とし、それらの食事からの摂取量の推移を比較した。

B. 研究方法

1) サンプル収集

食事ホモジネートは24時間に摂取する食事・飲料 (間食等すべて含む) をボランティア(30名)から提供されたものをそれぞれ専用ミキサーで混ぜ均一化し、100g前後の小さなボトルに分け、冷凍保存した。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。Table 1 に参加者の地域、採取年、年齢、食事量および脂肪含量を示す。

2) 化学物質

TBP, TBBPA および PCP は Wellington Laboratories社製を用いた。内標準として用いた α - ^{13}C endosulfan, および 4-OH- ^{13}C PCB187 は Cambridge Isotope 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。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

食事ホモジネートから汚染物質の分析法は、(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-液分配抽出と誘導體化 (メチル化)、(4) シリカゲルカラムによる精製の手順で行い、GC-MSにより定量した。その方法を Fig. 1 に示す。

(1) 試料10g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) 20mLの有機溶媒および内標準物質 (α - ^{13}C endosulfan, および 4-OH- ^{13}C PCB187, 各1.0 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回繰り返し抽出した液を濃縮し脂肪含量を測定した。

(2) 脂肪分はジクロロメタン (DCM) : n-ヘキサン(1:1 v/v) に溶解し、Bio-Beads S-X3 カラム (バイオラッド社製) 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まで濃縮した。フェノール性分画は 1M HCl 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、抽出液を濃縮し、ジアゾメタン(ジエチルエーテル溶液)を加えてO-メチル化を行った後、ヘキサン溶液 1 mLとた。

(4) 両分画とも、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た。イオン化モードは負イオン化化学イオン化(ECNI)を、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 2に示す。物質の定量はイオンクロマトグラム上のシグナルを内標準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(Table 2に記載分について1-10 ng/mL)の市販牛乳への添加回収率は74~99%、相対標準偏差は12%以下であった(n=5)。定量限界(LOQ)はシグナル/ノイズ比 = 10で算出すると、0.1 から 10 ng/g lipidの範囲であった(Table 2)。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0.1 ~ 5.0 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。4,4'-DDE, HCB, trans-nonachlor, BDE-47について分析した結果、いずれも認証値の15%以内であった。

C. 研究結果

1. 食事の POPs 汚染物質の推移

京都の食事(1993, 2004 および2011年)から POPsとして DDTs, HCHs, CHLs および HCB を、POPs 候補として dicofol および endosulfan を、フェノール性化合物として PCP, TBP, TBBPA および hydroxy-PBDE を分析し、その結果を Table 3 に示す。経年変化を Fig. 2 に示す。食事ホモジネートの1993年の平均摂取量をみると、TBBPA > DDTs > CHLs > endosulfans > Cl₇-MBP > HCHs の順であったが、2011年では DDTs > TBBPA > endosulfans > CHLs の順であった。2011年の POPs 摂取量(DDTs, HCHs, HCB, CHLsの合計)は1993年に比べて49%に減少した。dicofolは20 ng/dayから0.6 ng/dayへ、endosulfanは40 ng/dayから20 ng/dayへ減少した。成人(50kg)の1kgあたりの一日摂取量(EDI, ng/kg · bw/day)を求めると、dicofol, endosulfans の EDI はそれぞれ最大0.3 および 5 ng/kg · bw/day となり、FAO/WHOによる暫定耐容摂取量(PTDI, 2 μ g/kg bw/day for dicofol)(JMPR, 1992) および許容摂取量(ADI, 6 μ g/kg bw/day for endosulfans)(Lu, 1995)の0.015%および0.08%に相当した。

2. 食事のフェノール類およびメトキシ体の推移

フェノール性分画で、TBP をすべての食事試料から検出し、各年代とも平均 10.7~27.8 ng/day の摂取量であったが、減少傾向は見られなかった。PCP 濃度は、1993 年の 19.8 ng/day から 2011 年の 4.0ng/day へ低下した。TBBPA は 30 検体中 8 検体から検出され、平均値は 90 ng/day と推定された。hydroxy-PBDE のうち、6-OH-BDE47 は 11 試料(平均 6.8 pg/g wet) から、2'-OH-BDE68 は 5 検体 (最大 12.6 ng/day) から検出されたが、経年変化は推定できなかった。摂取許容量 (ADI) が設定されている TBBPA の EDI は 1.8 ng/kg bw/day で、最大摂取した場合でも ADI より 4 桁以上低い値であった。食事の中性分画で、上記フェノール類の methoxy 体である TBA、PCA および 6-MeO-BDE47 および 2'-MeO-BDE68 を検出した。1993 年の食事における TBA の TBP に対する含有比は 0.05 であったが、2011 年では 0.09 であった。PCA の PCP に対する残留比は 1993 年で 0.01、2011 年で 0.05 であった。一方、6-OH-BDE47 と 6-MeO-BDE47 の食事での濃度比は約 1:1 であった。TBBPA の dimethoxy 体は今回の食事試料では検出されなかった。

3. 新規 MeO-PBDE の検出

食事試料 30 検体中 13 検体から新規に 1 種類の dimethoxy-PBDE を検出した。それはマススペクトルから 2',6-dimethoxy-2,4,3',5'-tetrabromodiphenyl ether (diMeO-BDE68) と推定され、合成標準物質との比較でも一致した (Fig. 3)。この成分は 1993 年食事から検出されず、2004 年の食事では 90%、2010 年の食事では 10% の頻度で検出された。最高摂取量は、2010 年食事では 4800 ng/day であった。4 検体の食事が

ら、この脱メチル化されたと思われるフェノール体が検出された。この化学構造は 2'-OH-6-MeO-BDE68, 2'-MeO-6-OH-BDE68, 2',6-dihydroxy-BDE68 のいずれかであると推定した (標準試料が得られないため未定量)。

D. 考察

1. 食事中の dicofol および endosulfan の推移

POPs の摂取量については過去 20 年間に減少傾向がみられた。dicofol, endosulfan および臭素化合物 (HexaBB, TetraBB) でも減少傾向にあった。endosulfan は日本、ソウル、北京の母乳中に残留しているため (Fujii et al 2012a)、引き続きモニタリングが必要と思われる。今回の endosulfan の食品汚染レベルは、最近の調査結果とほぼ同じであった (Desalegn et al 2011)。食品中には α -型と β -型が 1:1~2:1 で含まれているが、 α -型は北極大気圏から長距離輸送されて拡散している (Weber et al 2010)。したがって、食事以外の曝露として α -endosulfan の大気からの吸入にも起因すると考えられる。

2. 食事中のフェノール性物質の推移

TBP は調査したフェノール性成分の中では最も多い摂取量であった。経時的には 2004 年食事では摂取量が多く、1993 年と 2010 年ではその摂取量に増減は見られなかった。TBP は数種の海洋藻や海洋底生動物によって生産、放出され、海洋魚で 39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dry wet と推定されている (Whitfield et al 1999)。一方で TBP は難燃剤として年間 3000 トン以上の需要があり、ハウスダスト成分にも含まれている (Watanabe and Sakai, 2003; Suzuki et al 2008)。このた

め、TBP のヒト曝露は食事由来およびハウスダストによる吸入の両方を考慮する必要がある。さらに食事中はTBA がTBP の 1/10 のレベルで混在していた。TBA は環境中のTBP が海洋微生物によりメチル化されたものと考えられる (Allard et al 1987)。

今回の調査したTBBPAは30検体中5検体から最大1080 ng/day が検出され、前回の沖縄での調査結果と類似した。しかし検出数が少ないため、推移は不明である。TBBPA は関西地域の内海の魚介類(45 中 26)や海鳥、海棲哺乳動物のほか、土壌でも検出されている(Ashizuka et al 2008 ; Watanabe et al 1983b)。このため食事中のTBBPA は海産物と農産物の両方に由来すると考えられる。中国の食品では最大2000pg/g wet のTBBPA が報告され、今回の我々の調査結果とほぼ同じであった (Shi et al 2009)。TBBPA は土壌中でメチル化されることが知られている(George and Haggblom 2008)。しかし、今回の調査ではdimethoxy-TBBPA は検出限界以下なので実態はまだ不明である(Watanabe et al 2003)。日本人の食事によるTBBPA の推定一日摂取量(EDI)を求めると、英国のトータルダイエツトスタディのEDIより高く (Driffield et al 2008)。中国の食事からのTBBPA のEDIと大きな違いはみられない。欧州の毒性委員会 (COT) はTBBPA の毒性評価を低く設定し、ADI を1mg/kgbw/day としている。これを基準にした場合、今回のTBBPA のEDI/ADI比はかなり低い。TBBPA は血液で短い半減期を有する (Hagmer et al 2000)。このため2011年のTBBPA 検出は過去の曝露の蓄積でなく、最近の曝露を反映していると考えられる。

PCP の食品汚染は、1993 年では 99

ng/day と推定されたが、2004 年、2010 年とも 20 ng/day 以下であった。PCP はハウスダスト成分でもあり、吸入による取込みも考えられる (Suzuki et al 2008)。PCA はPCP の 1/20 以下のレベルで検出された。これはPCP が環境微生物 (土壌) によりメチル化され、食品へ混入したものと考えられる (Mardones et al 2009; Watanabe et al 1983)。

食事中の 11 検体から水酸化PBDEとして、6-OH-BDE47 が検出された。この水酸化体はBDE-47 の代謝物の可能性は低く、海洋生物由来 (Haraguchi et al 2011) と考えられ、食事(海産物)経路で体内に入り、そのまま血液中に残留すると考えられる。もう1つの成分 2'-OH-BDE68 も微量に検出されたが、食事中にはそのメチル化体 (2'-MeO-BDE68) の方が高濃度であった。両者の体内挙動に違いがあると予想されるが、詳細については不明である。こうして、hydroxy-PBDE はhydroxy-PCB と発生源は異なるものの、体内曝露による発達期のT4の減少による脳神経発達への影響など (Meerts et al 2000) が懸念されるため、今後も食品残留濃度に注視する必要がある。

今回、はじめて食事中に dimethoxy-PBDE およびその脱メチル化体が混入していることがわかった。この成分は2'-MeO-BDE68 と同様に海洋生物で生産され、海産物でも頻繁に検出されているが、単独で高濃度で検出された例はこれまでにない。これはPBDEの代謝物ではないが、PBDE と類似構造を有し、体内残留性があると思われる。dimethoxy-PBDE68 は2'-methoxy-BDE68 との相関性は低かった。このため、dimethoxy-PBDE は独自の発生源に由来すると考えられる。

一方、バクテリアなどにより生成するPCA, TBAおよびMeO-BDEのようなO-メチル化体は高等動物の体内に入ると脱メチル化が起こることが知られている。太田ら(2012)の報告では、TBAはラット肝ミクロゾームにより容易に脱メチル化されTBPに代謝される。またPCAは脱メチル化されてPCPを生じることも報告されている(Ikeda and Sapienza 1995)。今回検出したhydroxy-PBDEについてもmethoxy-PBDEの脱メチル化が推測される(Wan et al 2010)。このようなフェノール類はいずれも内分泌かく乱性が指摘されているため、メトキシ体を含めてモニタリングする必要がある。

E. 結論

今回、「陰膳方式」による食事の汚染調査では、従来の塩素系POPsに加えて、フェノール性ハロゲン化合物の汚染実態を調査するとともに経年変化があるかどうかについて調べた。古典的POPsおよびおPOP候補物質の2011年の摂取量は1993年との比較では半減していたが、フェノール性ハロゲン化合物のうち、天然由来成分については変化が見られなかった。TBP, TBBPAおよびhydroxy-PBDEの摂取量はPOPs摂取量に近い量で摂取していると推定された。endosulfanおよびTBBPAのEDIについてはADIを大きく下回っており現段階のレベルでは健康影響はないと考えられるが、hydroxy-PBDEや新規に検出したdimethoxy-PBDEとその脱メチル化体については影響評価はされていない。今後、そのヒト曝露量についての動向と毒性評価を検討することが重要と思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表・その他

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

I. 文献

Allard, A. S.; Remberger, M.; Neilson, A. H., Bacterial O-methylation of halogen-substituted phenols. Appl Environ Microbiol 1987, 53, 839-845.

Ashizuka, Y.; Nakagawa, R.; Hori, T.; Yasutake, D.; Tobiishi, K.; Sasaki, K., Determination of brominated flame retardants and brominated dioxins in fish collected from three regions of Japan. Mol Nutr Food Res 2008, 52, 273-283.

Desalegn, B.; Takasuga, T.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Fujii, Y.; Yang, H. R.; Wang, P.; Senevirathna, S. T. M. L. D.; Koizumi, A., Historical trends in human dietary intakes of endosulfan and toxaphene in China, Korea and Japan. Chemosphere 2011, 83, 1398-1405.

Driffield, M.; Harmer, N.; Bradley, E.; Fernandes, A. R.; Rose, M.; Mortimer, D.; Dicks, P., Determination of brominated flame retardants in food by LC-MS/MS: diastereoisomer-specific hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A. Food Addit

- Contam Part A 2008, 25, 895-903.
- Fujii, Y.; Haraguchi, K.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Inoue, K.; Itoh, 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.; Koizumi, A., Detection of dicofol and related pesticides in human breast milk from China, Korea and Japan. *Chemosphere* 2011, 82, 25-31.
- Fujii, Y.; Ito, Y.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Koizumi, A.; Haraguchi, K., Comparative survey of levels of chlorinated cyclodiene pesticides in breast milk from some cities of China, Korea and Japan. *Chemosphere* 2012a, 89, 452-457.
- Fujii, Y.; Ito, Y.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Koizumi, A.; Haraguchi, K., Regional variation and possible sources of brominated contaminants in breast milk from Japan. *Environ Pollut* 2012b, 162, 269-274.
- George, K. W.; Haggblom, M. M., Microbial O-methylation of the flame retardant tetrabromobisphenol-A. *Environ Sci Technol* 2008, 42, 5555-5561.
- Gerhard, I.; Frick, A.; Monga, B.; Runnebaum, B., Pentachlorophenol exposure in women with gynecological and endocrine dysfunction. *Environ Res* 1999, 80, 383-388.
- Hagmar L, Sjodin A, Hoglund P, Thuresson K, Rylander L, Bergman A. Biological half-lives of polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol-A in exposed workers. *Organohalogen Compd* 2000, 47, 198-201.
- 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.
- Haraguchi, K.; Kotaki, Y.; Relox, J. R.; Romero, M. L. J.; Terada, R., Monitoring of naturally produced brominated phenoxyphenols and phenoxyanisoles in aquatic plants from the Philippines. *J Agric Food Chem* 2010, 58, 12385-12391.
- Ikeda, G. J.; Sapienza, P. P., Distribution, metabolism and excretion of pentachloroanisole in the beagle dog and miniature pig. *Food Chem Toxicol* 1995, 33, 409-421.
- JMPR, Monographs of Toxicological Evaluations. No. 842. Dicofol, Pesticide Residues in Food: 1992 Evaluations. Part II Toxicology. FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues. Percent of provisional tolerable daily intake (PTDI 2µg/kg bw for dicofol by FAO/WHO)
- 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, 1071-1084.
- 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.
- Lu, F., A review of the acceptable daily intakes of pesticides assessed by the World Health Organization. *Regul Toxicol Pharmacol* 1995, 21, 352-364. (ADI/TDI 6µg/kg bw/day for endosulfans set by FAO/WHO)
- Meerts, I. A.; Assink, Y.; Cnijn, P. H.; Van Den Berg, J. H.; Weijers, B. M.; Bergman, A.; Koeman, J. H.; Brouwer,

- A., Placental transfer of a hydroxylated polychlorinated biphenyl and effects on fetal and maternal thyroid hormone homeostasis in the rat. *Toxicol Sci* 2002, 68, 361-371.
- Meerts, I. A.; Letcher, R. J.; Hoving, S.; Marsh, G.; Bergman, A.; Lemmen, J. G.; van der Burg, B.; Brouwer, A., In vitro estrogenicity of polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated PDBEs, and polybrominated bisphenol A compounds. *Environ Health Perspect* 2001, 109, 399-407.
- 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.
- Sakai, S. I.; Watanabe, J.; Honda, Y.; Takatsuki, H.; Aoki, I.; Futamatsu, M.; Shiozaki, K., Combustion of brominated flame retardants and behavior of its byproducts. *Chemosphere* 2001, 42, 519-531.
- Shen, L.; Wania, F.; Lei, Y. D.; Teixeira, C.; Muir, D. C. G.; Bidleman, T. F., Atmospheric distribution and long-range transport behavior of organochlorine pesticides in North America. *Environ Sci Technol* 2005, 39, 409-420.
- 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. *Environ Sci Technol* 2009, 43, 4314-4319.
- 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. *Environ Sci Technol* 2008, 42, 1794-1800.
- Wan, Y.; Wiseman, S.; Chang, H.; Zhang, X.; Jones, P. D.; Hecker, M.; Kannan, K.; Tanabe, S.; Hu, J.; Lam, M. H.; Giesy, J. P., Origin of hydroxylated brominated diphenyl ethers: natural compounds or man-made flame retardants? *Environ Sci Technol* 2009, 43, 7536-7542.
- Watanabe, I.; Kashimoto, T.; Tatsukawa, R., Polybrominated anisoles in marine fish, shellfish, and sediments in Japan. *Arch Environ Contam Toxicol* 1983a, 12, 615-620.
- Watanabe, I., Kashimoto, T., Tatsukawa, R., The flame retardant tetrabromobisphenol A and its metabolite found in river and marine sediments in Japan. *Chemosphere* 1983b, 12, 1533-1839.
- Watanabe, I.; Sakai, S., Environmental release and behavior of brominated flame retardants. *Environ Int* 2003, 29, 665-682.
- Weber, J.; Halsall, C. J.; Muir, D.; Teixeira, C.; Small, J.; Solomon, K.; Hermanson, M.; Hung, H.; Bidleman, T., Endosulfan, a global pesticide: A review of its fate in the environment and occurrence in the Arctic. *Sci Total Environ* 2010, 408, 2966-2984.
- Whitfield, F. B.; Helidoniotis, F.; Shaw, K. J.; Svoronos, D., Distribution of bromophenols in species of marine algae from eastern Australia. *J Agric Food Chem* 1999, 47, 2367-73.

Table 1 Information of dietary homogenates in duplicate diet study from Kyoto 1993, 2004 and 2011.

Area	Sampling year	n	Homogenate (g)	Age	Body weight (kg)	Fat (%)
Kyoto	1993	10	2205	53 (47-59)	54.6	2.20
Kyoto	2004	10	1905	69 (63-76)	48.4	1.66
Uji	2011	10	2972	65 (62-75)	51.0	1.19

Table 2. Selected ion monitoring (SIM) used in the GC/MS analysis for dietary food from Kyoto area.

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), and ion source (150 °C)		
Ionization mode	Electron capture negative ionization (ECNI)		
Reagent gas	Methane		
Analytes	GC t _R (min)	Target ion (m/z)	LOQ* (ng/mL)
4,4'-DDT	14.45	71 (235)	1.0
4,4'-DDD	13.60	71 (235)	1.0
4,4'-DDE	12.76	318 (316)	1.0
dicofol	11.21	250 (139)	0.4
HCB	9.47	284 (286)**	0.1
α-HCH,	9.37	71 (255)	0.2
β-HCH	9.65	71 (255)	0.2
γ-HCH	9.74	71 (255)	0.2
<i>trans</i> -chlordane	11.77	412 (410)	0.2
<i>cis</i> -chlordane	12.14	412 (410)	0.2
oxychlordane	11.78	424 (426)	0.4
<i>trans</i> -nonachlor	12.51	444 (446)	0.1
<i>cis</i> -nonachlor	13.78	444 (446)	0.1
α-endosulfan	12.40	404 (406)	0.1
β-endosulfan	13.51	404 (406)	0.1
hexaBB	15.91	79 (161)	0.1
tetraBB	9.62	79 (161)	0.1
BDE-47	16.45	79 (161)	0.2
Cl ₇ -MBP	12.46	386 (388)	0.2
Br ₄ Cl ₂ -DBP	17.98	79 (544)	0.2
2'-OH-BDE68 (methylated)	17.74	79 (161)	0.2
2'-MeO-BDE68	17.74	79 (161)	0.2
6-OH-BDE47 (methylated)	18.29	79 (161)	0.2
6-MeO-BDE47	18.29	79 (161)	0.2
2',6-diMeO-BDE68	19.51	79 (161)	0.5
TBP (methylated)	8.90	79 (81)	0.05
TBA	8.90	79 (81)	0.05
PCP (methylated)	9.52	278 (280)	0.05
PCA	9.52	278 (280)	0.1
TBBPA (methylated)	22.13	79 (81)	10
Dimethoxy-TBBPA	22.13	79 (81)	10
4-OH-[¹³ C]-PCB187	17.38	438 (422)	0.2
α- [¹³ C] endosulfan (IS)	12.40	385 (387)	0.1

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

Table 3. Dietary intake (ng/day) of organohalogenes in dietary homogenate collected in 1993, 2004 and 2011 from Kyoto

analyte	freq %	LOQ ng/mL	1993					2004					2011					total				
			mean	SD	median	min	max	mean	SD	median	min	max	mean	SD	median	min	max	mean	SD	median	min	max
4,4'-DDE	100	1.0	144.62	110.88	102.21	37.51	369.00	127.19	76.42	123.04	28.21	216.59	86.64	93.03	55.76	7.07	282.27	119.48	94.46	95.62	7.07	369.00
4,4'-DDT	100	1.0	48.12	42.18	32.72	14.07	137.35	14.51	15.45	8.89	1.04	50.55	17.61	11.42	16.51	1.77	35.15	26.75	30.08	17.95	1.04	137.35
4,4'-DDD	100	1.0	41.85	52.73	21.38	6.15	180.36	11.51	7.86	10.74	1.30	23.97	11.66	8.64	7.80	.89	26.79	21.67	33.40	14.02	.89	180.36
dicofol	87	0.4	3.10	4.62	1.07	.56	15.27	1.26	.96	.80	.20	2.71	.58	.34	.54	.20	1.13	1.65	2.85	.80	.20	15.27
HCB	100	0.1	8.21	8.73	5.68	1.50	25.83	10.55	9.03	6.01	1.67	26.84	12.35	16.30	4.12	.61	44.72	10.37	11.59	5.34	.61	44.72
α-HCH	100	0.2	10.52	7.71	8.21	1.75	26.02	1.88	1.63	1.41	.43	6.04	2.62	1.22	2.74	.87	4.09	5.01	5.96	2.74	.43	26.02
β-HCH	100	0.2	19.61	5.28	21.26	8.20	27.06	6.03	7.25	3.54	.32	23.44	5.94	3.31	4.80	3.29	14.06	10.53	8.43	6.11	.32	27.06
γ-HCH	100	0.2	5.92	3.44	4.91	2.28	14.17	2.02	2.07	1.21	.45	6.30	2.05	1.09	2.03	.63	4.02	3.33	2.97	2.40	.45	14.17
trans-CHL	100	0.2	5.23	4.29	3.33	1.15	12.78	1.18	.94	.96	.28	3.62	10.72	8.79	6.63	1.22	24.42	5.71	6.77	2.63	.28	12.78
cis-CHL	100	0.2	15.95	16.93	7.57	3.65	53.03	1.96	.76	2.04	1.04	3.72	4.47	1.53	4.13	2.67	7.48	7.46	11.32	3.81	1.04	53.03
trans-NC	100	0.2	43.45	43.62	20.35	5.50	126.28	13.02	8.98	13.47	2.32	26.53	20.11	15.28	14.83	4.06	58.47	25.53	29.37	15.96	2.32	126.28
cis-NC	100	0.2	25.04	26.92	6.01	2.09	70.76	5.15	3.90	5.16	.52	13.53	7.04	5.67	6.15	1.43	20.88	12.41	17.96	6.01	.52	70.76
oxy-CHL	100	0.4	10.45	9.51	6.86	3.25	33.83	4.81	3.46	4.60	1.07	11.05	4.65	3.97	2.92	1.52	14.50	6.64	6.65	4.25	1.07	33.83
α-endosulfan	100	0.1	38.57	44.49	13.42	4.31	112.53	22.09	7.00	21.83	12.13	33.19	35.53	16.82	30.98	15.22	65.44	32.06	27.75	23.51	4.31	112.53
β-endosulfan	100	0.1	41.09	46.60	19.47	3.59	140.37	11.46	7.70	10.42	3.62	29.87	16.35	7.21	13.97	6.52	30.14	23.97	29.71	13.93	3.59	140.37
HexaBB	33	0.1	.51	.89	.10	.05	2.56	.78	1.02	.64	.05	3.16	.11	.20	.11	.05	.69	.47	.81	.09	.05	2.56
TetraBB	40	0.1	.13	.09	.10	.05	.30	.34	.31	.26	.05	.88	.05	.00	.05	.05	.17	.22	.08	.05	.05	.30
BDE-47	73	0.2	7.11	10.71	1.82	.78	28.70	6.33	5.41	4.90	1.26	15.79	2.18	3.82	.90	.71	13.05	5.21	7.35	1.47	.71	28.70
2'-OH-BDE68	17	0.2	.1	.0	.1	.1	.1	8.3	4.5	8.8	.1	12.8	.9	.7	.3	.1	2.2	1.2	2.8	.5	.1	12.8
2-MeO-BDE68	100	0.2	9.1	9.0	5.6	3.6	33.5	39.5	55.7	16.7	3.8	184.2	117.0	341.1	8.7	.2	1087.4	55.2	195.1	6.7	.2	1087.4
6-OH-BDE47	37	0.2	6.3	10.3	5.7	.1	28.8	28.5	98.1	10.8	.1	122.8	4.5	8.1	2.3	.1	22.3	12.4	25.1	3.3	.1	122.8
6-MeO-BDE47	73	0.2	9.05	13.92	2.15	.10	36.07	17.20	24.86	5.15	.10	78.95	12.35	27.66	4.49	.10	90.62	12.87	22.38	3.99	.10	90.62
2,6-diMeO-BDE68	43	0.2	.10	.00	.10	.10	.10	18.7	18.1	9.8	.1	81.0	482.9	1511.4	1.1	.1	4784.5	165.8	872.5	1.0	.1	4784.5
B4-C12-DBP	53	0.2	1.03	1.55	.39	.10	5.05	3.02	4.77	1.28	.00	15.79	2.76	5.94	2.12	.10	17.58	2.27	4.42	.24	.00	17.58
C17-MBP	97	0.2	41.58	72.85	7.71	.10	215.25	43.00	55.35	15.23	.76	150.64	4.80	8.80	.62	.33	26.37	29.79	54.27	2.50	.10	215.25
TBP	100	0.1	10.72	8.23	8.21	2.93	26.84	27.80	16.25	24.51	3.20	50.96	15.02	15.48	8.59	1.73	51.16	17.85	15.26	11.68	1.73	51.16
TBA	97	0.1	.53	.45	.36	.05	1.53	6.55	9.01	3.50	.56	30.13	1.35	1.62	.66	.05	4.42	2.81	5.78	.79	.05	30.13
PCP	100	0.1	19.76	14.89	17.49	1.52	44.80	4.30	2.80	3.83	.67	9.10	3.99	3.28	3.30	.51	11.19	9.35	11.43	4.06	.51	44.80
PCA	57	0.1	.18	.25	.12	.05	.85	1.17	.85	1.15	.05	2.71	.21	.25	.11	.05	.77	.52	.69	.20	.05	2.71
TBBPA	27	1.0	176.76	355.40	60.40	5.00	1088.04	15.68	18.20	13.40	5.00	62.50	76.73	226.84	76.73	5.00	722.34	89.72	244.61	10.12	5.00	1088.04

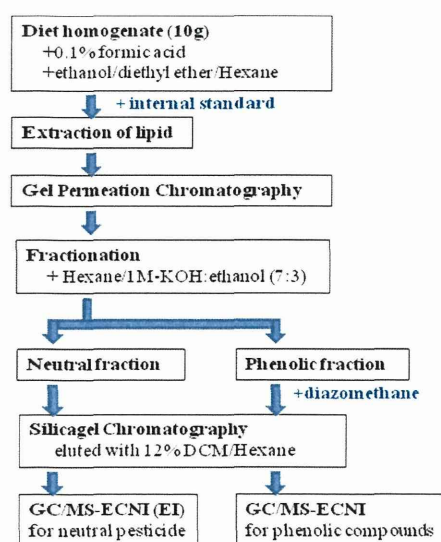


Fig. 1 Analytical methods for neutral and phenolic organohalogenes in dietary homogenate from Kyoto area.

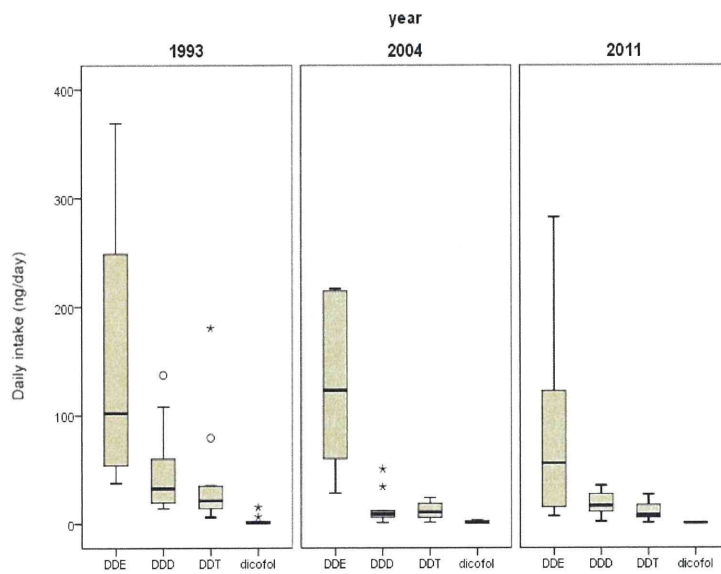


Fig. 2-1 Temporal trend of organohalogen contaminants (DDTs and dicofol) in duplicate diet study from Kyoto

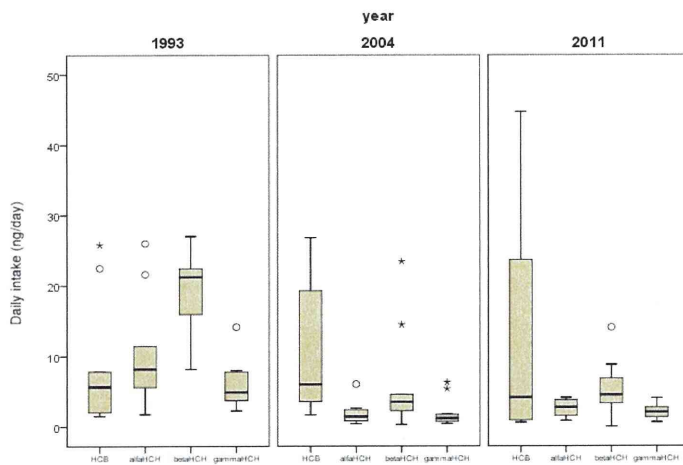


Fig. 2-2 Temporal trend of organohalogen contaminants (HCB and HCH) in duplicate diet study from Kyoto

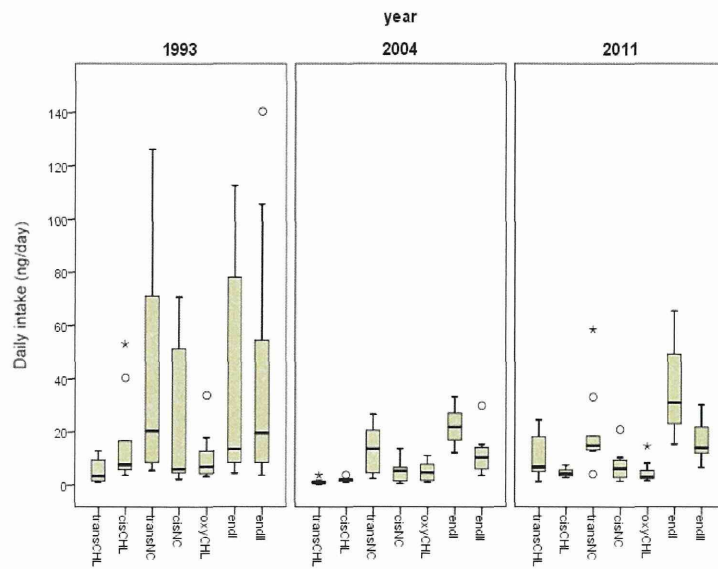


Fig. 2-3 Temporal trend of organohalogen contaminants (CHLs and endosulfan) in duplicate diet study from Kyoto

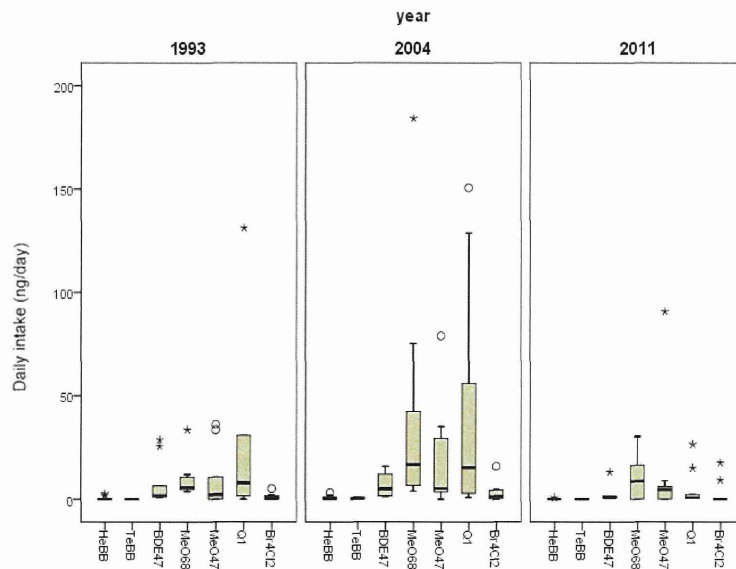


Fig. 2-4. Temporal trend of organohalogen contaminants (HBB and bipyrole) in duplicate diet study from Kyoto

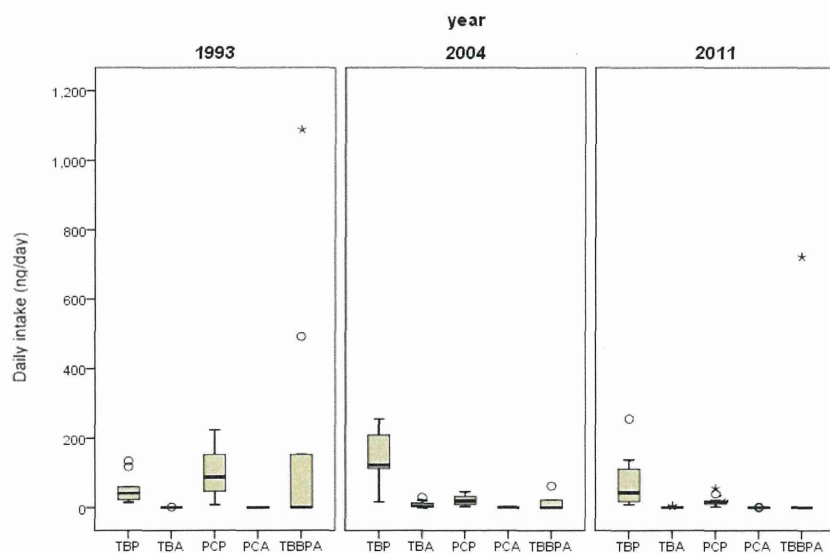


Fig. 2-5 Temporal trend of organohalogen contaminants (TBP, PCP and TBBPA) in duplicate diet study from Kyoto

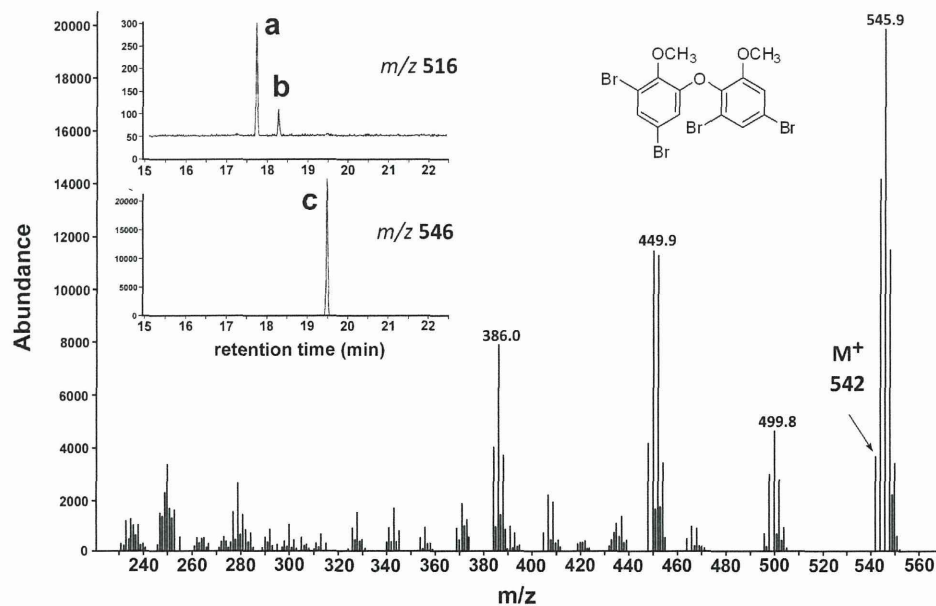


Fig. 3. GC/MS (EI mode) of brominated contaminants (peak C) found in diet homogenate from Kyoto 2011. Interposed chromatograms are selected ion monitoring profiles for methoxylated tetrabromodiphenyl ethers in neutral fraction from diet homogenate; Peaks a and b represent 2'-MeO-BDE68 and 6-MeO-BDE47, respectively. GC/MS conditions are the same as given in a literature (Haraguchi et al 2009)

長崎の母乳中の臭素系難燃剤および関連化合物の調査

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 京都大学大学院医学研究科・大学院生

研究要旨

本研究では、日本人の母乳に汚染が懸念される物質のうち、臭素化難燃剤 hexabromobenzene (HexaBB), 2,4,6-tribromophenol (TBP), tetrabromobisphenol A (TBBPA) および関連化合物の濃度を調査し、古典的 POPs、新規 POPs (endosulfan) および候補物質 (dicofol, pentachlorophenol) の濃度と比較した。ヒト試料バンクに保存されている長崎の 2010 年の母乳 20 検体を用いた。母乳中の HexaBB 濃度は平均 0.33 ng/g lipid であったが、その脱臭素化体、1,2,4,5-tetrabromobenzene (TetraBB) が 1.9 ng/g lipid で検出された。フェノール性難燃剤である TBP はすべての母乳から検出され、平均 15.6 ng/g lipid であった。TBBPA は 9 検体 (45% の頻度) で検出され、平均濃度は 3.6 ng/g lipid (nd~16 ng/g lipid) であった。dicofol, endosulfans および pentachlorophenol の残留濃度は 0.37, 1.7 および 0.9 ng/g lipid で TetraBB より低濃度であった。天然由来の残留臭素化合物として、2'-MeO-BDE68 および Br₄Cl₂-dimethyl bipyrrrole がそれぞれ 0.77 および 0.35 ng/g lipid で検出され、両成分に正の相関が見られた ($r=0.573, p<0.01$)。乳児による TBBPA の摂取量は暫定耐容量 PTDI (1mg/kg・bw/day) より 3 桁低いレベルであり、乳児への健康影響はないと考えられる。methoxy-PBDE および bipyrrrole 類の乳児による摂取については健康影響評価が必要と思われる。

A. 研究目的

食品への汚染の懸念される化学物質として、POPs 関連物質 (dicofol, endosulfans および pentachlorophenol (PCP))、難燃剤 (2,4,6-tribromophenol (TBP) および tetrabromobisphenol A (TBBPA))、さらに PCB や polybrominated diphenyl ether (PBDE) の水酸化体が挙げられる。このような残留農薬やフェノール性ハロゲン化合物は内分泌かく乱性、神経発達毒性、

免疫毒性を有し、体内に取り込まれると胎盤や母乳を通じ胎児 (乳児) への移行する可能性がある (Meerts et al., 2001; 2002; Kawashiro et al., 2008)。

フェノール性難燃剤である TBP および TBBPA は紙類・プラスチック・電気製品に添加剤として最もよく使われている (Watanabe and Sakai, 2003)。これらは物理化学的性質が PBDEs と類似しており、環境生物中でも検出されている。しかし、それらのヒト残留量に関するデータは少ない。また環境

中のフェノール性ハロゲン化合物は、メトキシ体に変換し、脂溶性が高まり、体内曝露量が増加することも考えられる。

本研究の目的は、ヒトへの影響が懸念される化学物質のうち、臭素化合物に焦点を当て、母乳を指標としてヒト曝露の実態を明らかにすることである。これまでの我々の報告は主に母乳POPが中心であったが、今回は、臭素化合物として、TetraBB, HexaBBおよびBDE-47を、フェノール性化合物としてTBP, TBBPAおよびhydroxy-PBDEを、またそれらのメチル化体を調査した。また残留農薬と比較するためdicofol, endosulfans およびpentachlorophenolを定量し、これらの乳児による許容摂取量 (ADI) と比較した。

B. 研究方法

1) サンプル収集

ヒト母乳試料は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、2009~2010年に長崎（佐世保市）の18~35歳の女性20名（平均年齢29歳）から提供されたものを使用した (Koizumi et al., 2009)。この研究（ヒト試料）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。参加者の地域、採取年、年齢、職業、出産回数、脂肪含量をTable 1に示す。

2) 化学物質

POPsのうち、DDTs, HCB, HCHsおよびクロルデン類(CHLs)の標準液は関東化学(株)より購入した。PCP, TBP, TBBPA, 2'-OH-BDE68, 6-OH-BDE47とそれらのメチル化体

はWellington Laboratories社製を用いた。内標準として用いた α -[^{13}C]endosulfan, はPOPs定量用に、4-OH-[^{13}C]PCB187はフェノール性化合物の定量用にAccuStandard社から購入した。シリンジスパイクとして用いた4'-methoxy-BDE121は、ストックホルム大学 (Dr. G. Marsh) より譲渡された。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時間乾燥させてから使用した。

3) 精製法

母乳中の汚染物質の分析法は、(1) 脂肪抽出、(2) ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)、(3) KOH:EtOH/ヘキサンにより分離したフェノール類の誘導体化(メチル化)、(4) シリカゲルカラムによる精製、(5) GC-MSの手順に従った。その方法をFig. 1に示す。母乳試料10g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(2:1:3) 20 mLおよびクリーンアップスパイク(α -[^{13}C]endosulfan および4-OH-[^{13}C]PCB187)を加え、抽出攪拌後、遠心分離して上層を分離した。この操作を2回繰り返し、抽出液を濃縮した後、脂肪含量を測定した。母乳の抽出液はBio-Beads S-X3カラム(バイオラッド社製)に付した。移動相はジクロロメタン(DCM):n-ヘキサン(1:1 v/v)とし、流速4 mL/minで最初の96-mLで脂質を除去し、その後の64-mLの溶出液を回収した。次に、この溶出液をn-ヘキサン(10 mL)溶液とし、1M KOH/エタノール(7:3)溶液(2 mL)で分配抽出を行い、上層(中性成分)と下層(フェノール性成分)を分離した。中性分画は1 mLまで濃縮しシリカゲ

ルカラムに付した。フェノール性分画は 2M 塩酸 1mLを加えた後、n-ヘキサン:ジエチルエーテル (8:2, v/v, 10 mL)で逆抽出を3回行った。抽出液を濃縮し、ジアゾメタン (ジエチルエーテル溶液)を加えてO-メチル化を行った後、ヘキサン溶液とした。両分画ともシリカゲルカラム (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た。イオン化モードは負イオン化化学イオン化 (ECNI) で、試薬ガスはメタンを使用した。Table 2 にGC/MSの設定条件と分析対象物質の検出イオンおよびLOQを示す。物質の定量はイオンクロマトグラムのシグナルと内標準との検量線によって行なった。定量値は脂肪重量あたりのng数で表示した。

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、各成分に妨害ピークが存在しないことを確認した。標準物質 (Table 2 に記載分について1-10 ng/mL) の牛乳への添加回収率は74-98%、相対標準偏差は12%以下であった (n=5)。定量下限値 (LOQ) はシグナル/ノイズ比 = 10で算出した (Table 2)。分析値がLOQ以下であった場合、LOQの1/2の値を平均濃度の計算に用いた。キャリブレーションは各物質とも0.1 ~ 5.0 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 Fortified Human Milk,

NIST) を用いて分析法を検証した。4,4'-DDE, HCB, trans-nonachlorおよびBDE-47について定量した結果、認証値との差は15%以内であった。分散分析 (ANOVA)による有意差は $p=0.05$ を基準とした。

C. 研究結果

1. 母乳中の臭素化合物

母乳から抽出した残留成分の濃度を Table 3 に示す。平均値で DDTs (69 ng/g lipid) > CHLs (46.1 ng/g lipid) > HCHs (25.9 ng/g lipid) > HCB (7.4 ng/g lipid) の順に定量された。臭素化合物では、TBP がすべての母乳から検出され、平均 15.6 ng/g lipid であった。次いで TBBPA は 9 検体から検出され、平均 3.6 ng/g lipid であった。ほかに、TetraBB (1.93 ng/g lipid)、endosulfans (1.7 ng/g lipid)、PCP (0.90 ng/g lipid)が微量に検出された。2'-MeO-BDE68 (検出率95%) は 0.77 ng/g lipid で、BDE-47 (0.61 ng/g lipid)とほぼ同レベルで定量された。20 試料中 4 試料で 6-OH-BDE47 が最大 0.25 ng/g lipid で検出された。HexaBB の濃度は TetraBB の約 1/6 の濃度であった。ハロゲン化ビピロール類 (Br₄Cl₂-DBP および Cl₇-MBP) はそれぞれ 0.35, 0.63 ng/g lipid で検出された。出産回数 (1回と複数回) による有意差検定 (ANOVA) では、 β -HCH に有意差 ($p=0.044$) が認められたが、他の成分では認められなかった ($P>0.05$, Fig. 3)。母乳中の endosulfans は 4,4' - DDE, dicofol および TBP と正の相関を示した ($p<0.05$, Table 4)。TBP と TBBPA の間には有意な相関性は見られなかったが、2'-MeO-BDE68 と Br₄Cl₂-DBP の間では有意に相関した ($r=0.572$, $p=0.008$, Fig. 4)。

2. 推定一日摂取量

母乳中の濃度から乳児 (5 kg, 700mL 授乳の場合) による一日摂取量 (EDI, ng/kg・bw/day)を推定した結果、dicofol および endosulfans の EDI はそれぞれ 1.0 および 4.8 ng/kg bw/day で暫定耐容量 (PTDI) または許容量(ADI)より3桁低い量であった。TBP および TBBPA の平均 EDI はそれぞれ 44 および 10 ng/kg bw/day であった。CHLs の EDI は 130 ng/kg bw/day を示し、ADI (0,5 µg/kg bw/day) の 26% に相当した。

3. フェノール性ハロゲン化合物とそのメトキシ化体

食事に検出されるフェノール性画分のTBP、PCPおよび6-OH-BDE47濃度と中性分画で検出されるそれらのメチル化体TBA、PCAおよび6-MeO-BDE47濃度を比較した。母乳におけるTBA/TBP比は0.03、PCA/PCP比は0.10であった。一方、6-OH-BDE47は4検体の平均値は0.15 ng/kg bw/dayで、MeO-BDEの濃度の1/2以下であった。2'-OH-BDE68 および dimethoxy-TBBPAは今回の母乳では検出できなかった。

D. 考察

1. 母乳中の中性汚染物質

我々は先行研究で、日本、中国および韓国の母乳からdicofolおよびendosulfanを検出したきた (Fujii et al 2011; 2012b)。今回、長崎の母乳中でも同レベルのdicofolおよびendosulfanが検出された。食事のendosulfanはα型とβ型が約1:1で残留していると報告されている (Desalegn et al 2011) が、母乳中では約10:1とβ型の割合が低い。

これは、体内に取り込まれたβ型がα型に変換したため (Weber et al 2010)、またはα型は大気中に多く含まれるためその吸入摂取により母乳にα型の割合が大きくなっていることも考えられる。Dicofolおよびendosulfanの乳児によるEDI はそれぞれ許容値 (2および6 µg/kg・bw/day)を大きく下回っているため、乳児へのリスクは少ないと思われる (Lu, 1995)。

HexaBBは難燃剤として年間350トン (1994-2001) が使用されている (Watanabe and Sakai 2003)。我々は前回、沖縄および北海道の母乳中にHexaBB および TetraBB を検出した (Fujii et al 2012a)。今回の母乳のTetraBB 濃度は沖縄母乳のそれよりわずかに低い程度であった。TetraBBは難燃剤である HexaBBが環境中で脱臭素化されたと考えられる。本年度の食事の残留調査ではHexaBBとTetraBB がほぼ同量混入していた。母乳中にHexaBBよりもTetraBBが高濃度で残留している結果は、HexaBBがヒト体内でTetraBBへ代謝されて残留することを示唆している (Yamaguchi et al 1988)。

2. 母乳中のフェノール性ハロゲン化合物とメトキシ体

今回調査した長崎の母乳中の TBP 濃度は、前回調査した沖縄母乳中濃度より高かった。TBP は数種の海洋藻や海洋底生動物によって生産、放出されている (Haraguchi et al., 2010)。一方、TBP は難燃剤 (中間体) として年間3000 トン以上の需要がありハウスダスト成分とされている (Watanabe and Sakai 2003; Suzuki et al 2008)。このことから母乳中に残留する TBP は食事からの摂取およびハウスダストによる吸入の両方を考慮する必要がある。

TBBPA は 20 検体中 9 検体 (検出率 45%) で検出され、前回の沖縄母乳の TBBPA (nd-14 pg/g wet、検出率 30%) より高濃度であった。日本の魚介類調査では、関西地域の内海の魚介類(45 中 26)から TBBPA が 10-110 pg/g wet 検出され、土壌でも検出されている (Ashizuka et al 2008; Watanabe et al 1983b)。このため、母乳の TBBPA 汚染は食事の海産物と農産物の両方に由来すると考えられる。TBBPA は体内での半減期が短いため (Hagmer et al 2000)、母乳での検出は過去の曝露による蓄積でなく、最近の曝露を反映していると考えられる。TBBPA の ADI は欧州の毒性委員会 (COT) では、1mg/kgbw/day としている (Driffield et al 2008)。乳児(5 kg)による母乳 TBBPA の推定一日摂取量(EDI)は、ADI より 3 桁低いことから、健康へのリスクは低い。

PCP は血液残留性が高いことが知られているが、今回の調査で母乳中の PCP 濃度は TBP と比べてかなり低かった。したがって PCP は血液から母乳中には移行しにくいと考えられる。

水酸化 PBDE では、6-OH-BDE47 が 4 検体から検出された。これは BDE-47 の代謝物ではなく、海洋生物が産生する 6-OH-BDE47 が食事を通して体内に取り込まれた後、血液に残留し、一部が母乳に移行したと考えられる。6-OH-BDE47 は水酸化 PCB と同様、体内曝露により発達期の甲状腺ホルモン T4 の減少による脳神経発達への影響などが懸念される (Meerts et al 2001)。

母乳には OH-PBDE よりもそのメトキシ体が高濃度で検出された。メトキシ体は OH 体より脂溶性が高いため血液よりも脂肪を多く含む母乳に移行すると推察される。また、TBBPA は

土壌中でメチル化されることが知られている (George and Haggblom, 2008)。しかし今回、母乳中にはそのメチル化体は検出できなかった。

母乳中に検出された PCA, TBA および MeO-BDE のようなメトキシ体は体内で脱メチル化が起こることが想定される。太田ら (2012) は TBA が肝ミクロゾームにより容易に脱メチル化されることを明らかにした。また、PCA は動物体内で脱メチル化により PCP へ代謝されることが報告されている (Ikeda and Sapienza 1995)。methoxy-PBDE についても一部は脱メチル化される可能性がある (Wan et al 2010)。フェノール性化合物はいずれも内分泌かく乱性が指摘されているため、フェノール体の乳児への健康影響評価を行う際、メトキシ体も考慮する必要がある。

E. 結論

今回、日本人の母乳中の残留成分のうち、従来の塩素系 POPs に加えて、臭素系ハロゲン化合物を調査した。中性分画の臭素化合物は TetraBB の濃度が高く、ついで BDE-47 と MeO-PBDE の順であった。フェノール性分画では、TBP > TBBPA > PCP > OH-PBDE の順に検出された。ADI が設定されている TBBPA については、母乳の乳児による摂取量の EDI/ADI 比率は極めて低く、授乳による安全性の点で問題がないと思われる。フェノール性成分の間で濃度に相関性のある成分は見当たらず、これらのヒト残留成分は必ずしも食事由来だけではないことを示唆している。食品中には、フェノール体のメチル化した成分が含まれ、その動向に注視する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

2. 論文発表

なし

2. 学会発表・その他

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

I. 文献

Ashizuka, Y.; Nakagawa, R.; Hori, T.; Yasutake, D.; Tobiishi, K.; Sasaki, K., Determination of brominated flame retardants and brominated dioxins in fish collected from three regions of Japan. *Mol Nutr Food Res* 2008, 52, 273-283.

Desalegn, B.; Takasuga, T.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Fujii, Y.; Yang, H. R.; Wang, P.; Senevirathna, S. T. M. L. D.; Koizumi, A., Historical trends in human dietary intakes of endosulfan and toxaphene in China, Korea and Japan. *Chemosphere* 2011, 83, 1398-1405.

Driffield, M.; Harmer, N.; Bradley, E.; Fernandes, A. R.; Rose, M.; Mortimer, D.; Dicks, P., Determination of brominated flame retardants in food by LC-MS/MS: diastereoisomer-specific hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A. *Food Addit Contam Part A* 2008, 25, 895-903.

Fujii, Y.; Haraguchi, K.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Inoue, K.; Itoh, 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.; Koizumi, A., Detection of dicofol and related

pesticides in human breast milk from China, Korea and Japan. *Chemosphere* 2011, 82, 25-31.

Fujii, Y.; Ito, Y.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Koizumi, A.; Haraguchi, K., Comparative survey of levels of chlorinated cyclodiene pesticides in breast milk from some cities of China, Korea and Japan. *Chemosphere* 2012a, 89, 452-457.

Fujii, Y.; Ito, Y.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Koizumi, A.; Haraguchi, K., Regional variation and possible sources of brominated contaminants in breast milk from Japan. *Environ Pollut* 2012b, 162, 269-74.

George, K. W.; Haggbloom, M. M., Microbial O-methylation of the flame retardant tetrabromobisphenol-A. *Environ Sci Technol* 2008, 42, 5555-61.

Haraguchi, K.; Kotaki, Y.; Relox, J. R.; Romero, M. L. J.; Terada, R., Monitoring of Naturally Produced Brominated Phenoxyphenols and Phenoxyanisoles in Aquatic Plants from the Philippines. *J Agric Food Chem* 2010, 58, 12385-12391.

Ikeda, G. J.; Sapienza, P. P., Distribution, metabolism and excretion of pentachloroanisole in the beagle dog and miniature pig. *Food Chem Toxicol* 1995, 33, 409-421.

JMPR, Monographs of Toxicological Evaluations. No. 842. Dicofol, Pesticide Residues in Food: 1992 Evaluations. Part II Toxicology. FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues. Percent of provisional tolerable daily intake (PTDI) 2µg/kg bw for dicofol by FAO/WHO)

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, 1071-1084.

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.

Lu, F., A review of the acceptable daily intakes