

- of pesticides assessed by the World Health Organization. *Regul Toxicol Pharmacol* 1995, 21, 352-364.
(ADI/TDI 6ug/kg bw/day for endosulfans set by FAO/WHO)
- Meerts, I. A.; Assink, Y.; Cenijs, 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.
- 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.
- Yamaguchi, Y., Kawano, M., Tatsukawa, R., Moriwaki, S., Hexabromobenzene and its debrominated compounds in human adipose tissues of Japan. *Chemosphere* 1988, 17, 703-707.

Table 1. Information of breast milk used in this study

area	city	sampling year	age	occupation	parity	fat %
Nagasaki 1	Sasebo	2009	28	事務職	2	1.16
Nagasaki 2	Sasebo	2009	30	主婦	3	1.09
Nagasaki 6	Sasebo	2009	34	サービス業	2	3.02
Nagasaki 7	Sasebo	2009	35	事務職	3	3.37
Nagasaki 8	Sasebo	2009	18	主婦	1	1.83
Nagasaki 11	Sasebo	2009	24	サービス業	1	3.11
Nagasaki 12	Sasebo	2009	22	主婦	1	2.18
Nagasaki 16	Sasebo	2010	29	外交員	2	1.57
Nagasaki 17	Sasebo	2010	33	主婦	2	1.31
Nagasaki 18	Sasebo	2010	28	製造業	1	2.07
Nagasaki 19	Sasebo	2010	25	製造業	3	2.07
Nagasaki 20	Sasebo	2010	29		2	1.62
Nagasaki 21	Sasebo	2010	34	主婦	1	2.20
Nagasaki 22	Sasebo	2010	29	事務職	2	1.28
Nagasaki 23	Sasebo	2010	30	事務職	1	1.14
Nagasaki 25	Sasebo	2010	34	主婦	2	2.35
Nagasaki 27	Sasebo	2010	30	サービス業	1	2.53
Nagasaki 28	Sasebo	2010	26	主婦	2	1.72
Nagasaki 29	Sasebo	2010	34	主婦	3	1.55
Nagasaki 34	Sasebo	2010	25	栄養士	1	1.82
average			28.9		1.8	1.95

Table 2. Selected ion monitoring (SIM) used in the GC/MS analysis for breast milk.

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 (230 °C for EI, 150 °C for ECNI)		
Ionization mode	Electron capture negative ionization (ECNI)		
Reagent gas	Methane		
Analytes	GC t _R (min)	Target ion (<i>m/z</i>)	LOQ* (ng/g lipid)
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)	0.2
hexachlorobenzene (HCB)	9.47	284 (286)**	0.05
α-HCH,	9.37	71 (255)	0.1
β-HCH	9.65	71 (255)	0.1
γ-HCH	9.74	71 (255)	0.1
<i>trans</i> -chlordan	11.77	412 (410)	0.1
<i>cis</i> -chlordan	12.14	412 (410)	0.1
oxychlordan	11.78	424 (426)	0.1
<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
hexabromobenzene (HexaBB)	15.91	79 (81)	0.1
tetrabromobenzene (TetraBB)	9.62	79 (81)	0.05
2,2',4,4'-tetraBDE (BDE-47)	16.45	79 (161)	0.1
Cl ₇ -MBP	12.46	386 (388)	0.1
Br ₄ Cl ₂ -DBP	17.98	79 (544)	0.1
2,4,6-tribromophenol (TBP) (methylated)	8.90	79 (81)	0.1
2,4,6-tribromoanisole (TBA)	8.90	79 (81)	0.1
pentachlorophenol (PCP) (methylated)	9.52	278 (280)	0.1
pentachloroanisole (PCA)	9.52	278 (280)	0.1
tetrabromobisphenol A (TBBPA) (methylated)	22.13	79 (81)	0.5
dimethyl-tetrabromobisphenol A	22.13	79 (81)	0.5
2'-OH-BDE68 (methylated)	17.74	79 (81)	0.1
2'-MeO-BDE68	17.74	79 (81)	0.1
6-OH-BDE47 (methylated)	18.29	79 (81)	0.1
6-MeO-BDE47	18.29	79 (81)	0.1
α-[¹³ C]endosulfan (IS)	12.29	385 (387)	0.1
4-OH-[¹³ C]PCB187 (IS) (methylated)	17.38	438 (422)	0.1

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

Table 3. Concentrations of organohalogenes in human breast milk from Nagasaki 2010

analyte	freq %	LOQ ng/g lw	primiparous, n=8				multiparous, n=12				total, n=20						
			mean	SD	median	min	max	mean	SD	median	min	max	mean	SD	median	min	max
4,4'-DDE	80	1	83.93	55.97	60.61	34.61	199.47	50.68	20.50	41.71	28.18	88.34	63.98	40.95	49.73	28.18	199.47
4,4'-DDD	45	1	1.75	1.55	1.12	.50	4.65	1.21	1.12	1.10	.50	3.32	1.43	1.30	.90	.50	4.65
4,4'-DDT	100	1	4.91	4.24	2.90	1.28	12.69	2.42	1.72	2.47	.50	5.62	3.41	3.15	2.75	.50	12.69
dicofol	95	0.2	.45	.17	.44	.15	.71	.31	.17	.25	.10	.70	.37	.18	.33	.10	.71
HCB	100	0.05	8.43	6.97	6.09	.76	18.63	6.70	5.68	4.98	.90	18.65	7.39	6.11	4.98	.76	18.65
α-HCH	30	0.1	.07	.05	.07	.05	.19	.15	.14	.14	.05	.47	.12	.12	.11	.05	.47
β-HCH	100	0.1	34.75	20.04	24.50	16.57	69.85	19.56	11.49	18.33	6.74	45.59	25.64	16.81	21.02	6.74	69.85
γ-HCH	75	0.1	.10	.05	.10	.05	.20	.18	.31	.07	.05	1.15	.15	.24	.08	.05	1.15
trans-CHL	40	0.1	.14	.10	.16	.05	.30	.11	.10	.08	.05	.30	.12	.10	.09	.05	.30
cis-CHL	75	0.1	.25	.18	.23	.05	.56	.34	.34	.19	.05	.96	.30	.28	.20	.05	.96
trans-NC	100	0.1	34.06	26.40	27.81	10.81	93.13	24.54	15.35	18.44	9.02	53.01	28.35	20.40	22.95	9.02	93.13
cis-NC	100	0.1	11.95	9.20	10.98	1.35	31.60	6.69	3.44	5.81	1.77	13.25	8.79	6.71	6.64	1.35	31.60
oxy-CHL	100	0.1	8.51	11.20	4.94	.51	34.91	9.33	19.47	2.37	.39	69.57	9.00	16.31	2.60	.39	69.57
α-endosulfan	100	0.1	1.61	.28	1.61	1.21	1.99	1.48	.75	1.42	.36	2.55	1.53	.60	1.51	.36	2.55
β-endosulfan	60	0.1	.23	.18	.25	.05	.57	.11	.06	.11	.05	.22	.16	.14	.12	.05	.57
BDE-47	95	0.1	.73	.42	.76	.05	1.24	.53	.29	.43	.13	1.02	.61	.35	.54	.05	1.24
HexaBB	60	0.1	.37	.31	.33	.05	.75	.31	.27	.35	.05	.87	.33	.28	.35	.05	.87
TetraBB	100	0.05	2.57	2.13	1.83	.41	6.03	1.51	1.08	1.23	.07	3.68	1.93	1.62	1.51	.07	6.03
2'-OH-BDE68	0	0	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00
2'-MeO-BDE68	95	0.1	.76	.64	.66	.08	1.86	.78	.63	.54	.13	2.07	.77	.62	.54	.08	2.07
6-OH-BDE47	20	0.1	.06	.03	.06	.05	.13	.08	.06	.07	.05	.25	.07	.05	.06	.05	.25
6-MeO-BDE47	20	0.1	.09	.06	.08	.05	.19	.13	.27	.13	.05	.97	.11	.21	.06	.05	.97
Br4Cl2-DBP	85	0.1	.28	.26	.16	.09	.84	.39	.61	.15	.05	2.15	.35	.49	.16	.05	2.15
Cl7-MBP (Q1)	90	0.1	.66	.86	.22	.05	2.44	.61	.57	.45	.15	1.99	.63	.68	.36	.05	2.44
TBP	100	0.05	15.10	8.51	15.23	2.35	30.93	15.97	9.29	19.44	2.42	27.05	15.62	8.76	17.25	2.35	30.93
TBA	100	0.05	.33	.15	.32	.07	.56	.46	.40	.37	.03	1.31	.41	.32	.32	.03	1.31
PCP	100	0.05	.75	.35	.79	.19	1.21	1.01	.65	.74	.06	2.29	.90	.55	.74	.06	2.29
PCA	80	0.1	.07	.03	.08	.01	.12	.10	.07	.08	.05	.24	.09	.06	.08	.01	.24
TBBPA	45	2	3.85	4.71	2.40	1.00	14.40	3.45	4.90	1.38	1.00	16.23	3.61	4.70	1.46	1.00	16.23

Table 4. Correlation in concentration between selected organohalogenes in human breast milk from Sasebo 2010.

	dicofol	β-HCH	trans-nonachlor	α-endosulfan	tetraBB	TBP
4,4'-DDE	0.593**	0.346	0.405	0.451*	-0.096	0.172
dicofol	1	0.449*	0.743**	0.620**	0.429	0.428
β-HCH		1	0.719**	0.323	0.460*	0.121
trans-nonachlor			1	0.513*	0.407	0.279
α-endosulfan				1	0.060	0.608*
tetraBB					1	0.051

**<0.01, *<0.05

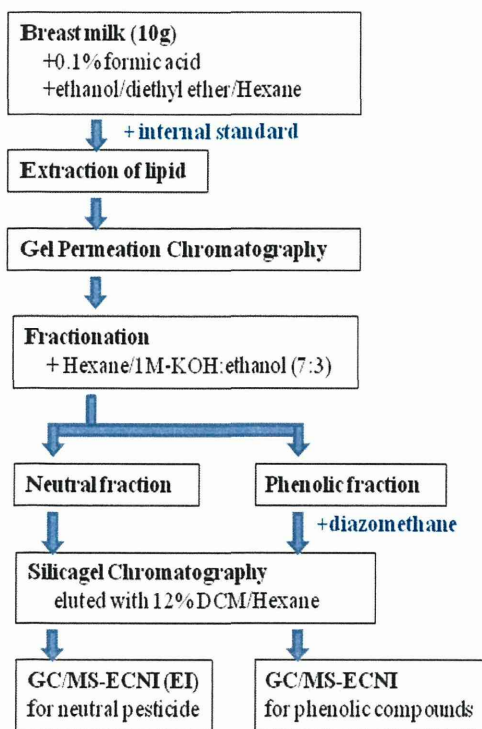


Fig. 1 Flow chart of analysis for organochlorines in breast milk

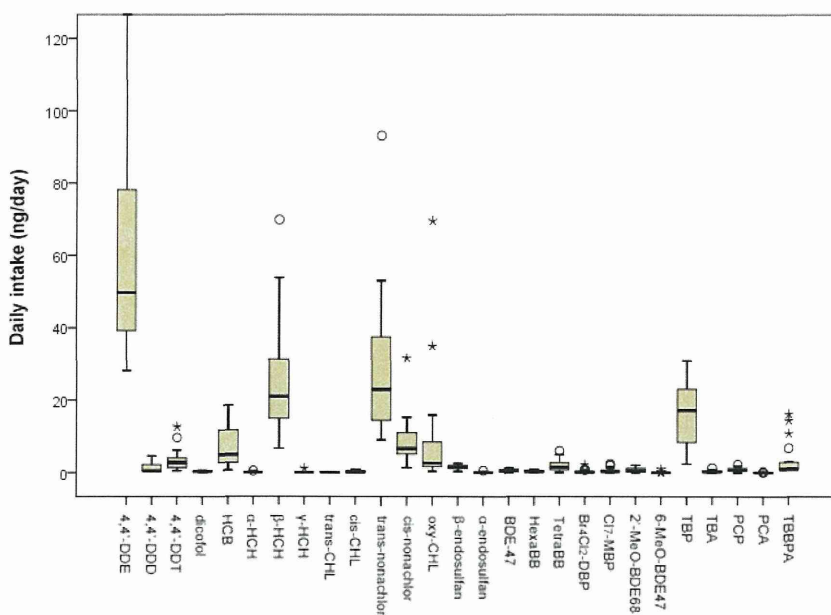


Fig 2. Concentrations of organohalogenes in breast milk from Sasebo 2011

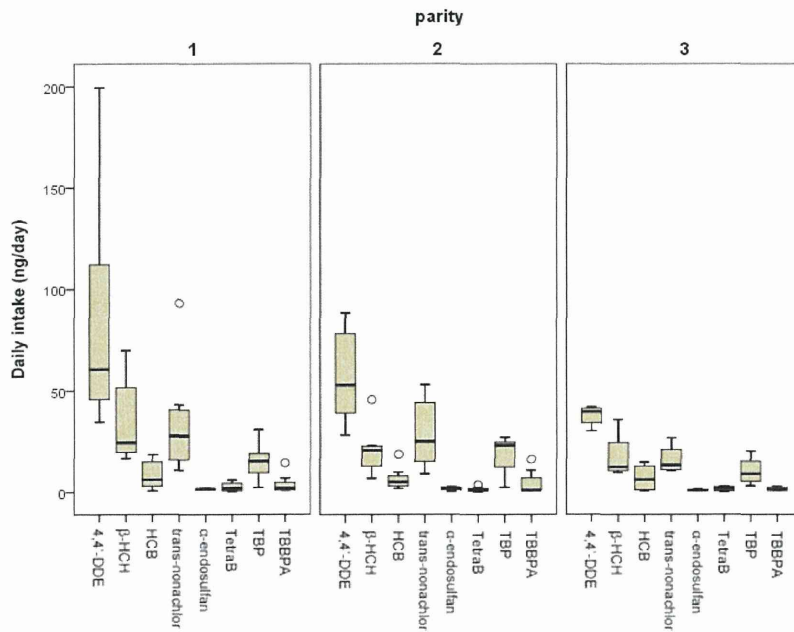


Fig. 3. Comparison of selected organohalogen between multiparous mothers from Sasebo

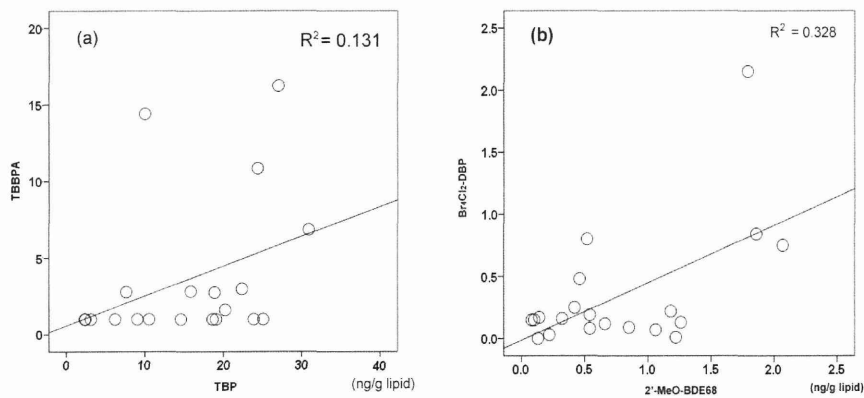


Fig. 4. Correlation in concentration between TBP and TBBPA (a), and between 2'-MeO-BDE68 and Br₄Cl₂-DBP (b). Pearson's correlation coefficients, (a) $r=0.362$, $p=0.117$, (b) $r=0.573$, $p=0.008$

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7

日中韓の食事および母乳中に汚染の懸念されるフェノール性ハロゲン化合物の
残留調査

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

日本、中国および韓国の母乳および食事のフェノール性ハロゲン化合物（POC）について、その残留濃度を比較調査した。今回、新たに抗菌剤として用いられているトリクロサン（TCS）の母乳での残留実態と食事経由での曝露量について3か国で比較調査した。2009-2010年の母乳中におけるTCSの平均残留量は韓国（ソウル）で49 ng/g lipid、中国（北京）で45 ng/g lipid、日本（京都）で77 ng/g lipidであった。1990年および2009年に陰膳方式で収集した食事試料に基づくTCSの一日摂取量は、韓国で増加傾向を示したが、中国および日本の食事では3 µg/day前後と推定され、両年代で大きな変動は見られなかった。このことから、TCSは、過去10年間は食事経由でヒトは曝露され、一部は母乳中に排泄されるものと思われる。他のフェノール性臭素化合物の母乳中濃度については、tetrabromobisphenol A (TBBPA)が食事、母乳ともに中国で高く、2,4,6-tribromophenol (TBP)は韓国で高かった。水酸化PBDEのうち6-OH-BDE47が日本の食事では検出されたが、母乳中には検出されなかった。

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)として、我々はこれまでに2,4,6-tribromophenol (TBP)、pentachlorophenol (PCP)、tetrabromobisphenol A (TBBPA)および hydroxy-tetrabromodiphenyl ether (OH-BDE) の日本人における残留実態を食事、血液および母乳を用いて調査してきた (Fujii et al., 2012; Fujii et al 2014)。OH-BDEが海洋生物由来化学物質であるのに対し、これと同じ骨格を有するトリクロサン (5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol; TCS, Fig.1)は広く病院等で

消毒剤として用いられ、また日常の化粧品や歯磨き粉等に添加されて利用されている。TCSは環境中に流出後、一部は河川や海底に蓄積されている (Rodorix 2010)。TCSの毒性は不明な点が多く、その疎水性や難分解性から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)。また内分泌かく乱性が動物実験で指摘されるほか、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。このため、その継続的なモニタリングと毒性評価が必要となる (Dayan, 2007; Dannand Hontela, 2011)。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 2006; Dayan, 2007)、ヒトの食事からの摂取量が推定されている (Canosa et al 2008)。日本における魚介類からTCSが検出されているが (Miyazaki et al 1984; Okumura et al 1996)、東アジア圏におけるTCSの環境分布、食事やヒト体内の残留実態についての調査はほとんど行われていない。

そこで本研究は、京都大学生体試料バンクに保管してある日本、中国および韓国の食事およびヒト母乳試料を用いて、TCSを含むフェノール性ハロゲン化合物の食事からの摂取量および母乳中の濃度を計測し、3か国での汚染実態を比較することを目的とした。分析対象項目として、古典的POPsの一部も測定したので、合わせて報告する。

B. 研究方法

1) 食事（陰膳方式）および母乳収集

日本、中国および韓国の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。

日本、中国および韓国の母乳試料は京都大学生体試料バンクに保存されている試料のうち、2010年に韓国（ソウル市）の30～38歳の女性10名（平均年齢32歳）、2009年に中国（北京市）の25～30歳の女性10名（平均年齢28歳）および2010年に日本（京都市）の21～37歳の女性10名（平均年齢32歳）から提供された母乳を使用した (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。Table 1およびTable 2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

TCS、TBP、TBBPAおよびPCPはCambridge Isotope Laboratories社製を用いた。内標準として用いた¹³C-triclosan、¹³C-methyltriclosan、¹³C-endosulfan、および4-OH-[¹³C]PCB187は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。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℃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、従来の方法に従った (Fujii et al 2014)。(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. 2に示す。

(1) 母乳試料10g、食事試料15g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 (¹³C-triclosan, ¹³C-methyltriclosan, ¹³C-endosulfan, および4-OH-[¹³C]PCB187, 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回繰り返して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 (40g, 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96mL溶出で脂質を除去し、その後の 64mL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1mLまで濃縮した。フェノール性分画は 1M 塩酸 2mL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 1mLとった。

(4) 両分画とも、シリカゲルカラム (0.2g, 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 µL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 3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。標準物質および内標準物質

(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) を用いて定量した結果、4,4'-DDE、HCB、trans-nonachlor 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) 母乳中のPOC

Table 4に韓国 (ソウル)、中国 (北京) および日本 (京都) の母乳中のPOCsの濃度を示す。TCSはすべての母乳から検出された。その平均値は韓国で49 ng/g lipid、中国で47 ng/g lipid、日本で77 ng/g lipidで最高値は中国人母乳の217 ng/g lipidであった。TBPについては韓国および中国の母乳でそれぞれ19および25 ng/g lipidを示し、日本の母乳では4 ng/g lipidの低い値を示した。TBBPAについては、韓国の母乳10検体中2検体で、中国の3検体で、日本の3検体で検出され、その最高値は日本人の15 ng/g lipidであった。OH-BDEについては、2'-OH-BDE68が韓国および中国の母乳それぞれ1検体で検出されたのみであった。

2) 食事の中のPOC

食事に混入しているPOCsについて、

陰膳方式で収集した食事を調査した。韓国、中国および日本人の一日摂取量をTable 5 に示す。TCS、TBPおよびPCPはすべての食事から検出された。韓国では、TCSの一日摂取量は、1990年で約1.5 µg/dayの比較的低い値を示したが、2009年には3.4 µg/dayへ増加した。中国および日本人のTCS摂取量はいずれも2.5~3.7 µg/dayで推移し、経年変化は認められなかった。TBPの摂取量は、韓国で増加傾向を示したが、中国では摂取量に経年変化はなく、日本では減少傾向を示した。一方PCPの摂取量は韓国で増加したが、中国および日本の食事では大きく減少した。OH-PBDEのうち、2'-OH-BDE68が、全食事30検体中13検体から検出された。中国では摂取量の増加傾向を示したが、韓国および日本では減少傾向を示した。6-OH-BDE47は日本の食事5検体から検出され、最高値7.4 µg/dayを示したが、韓国および中国の食事からは検出されなかった。

D. 考察

1) 母乳中のTCS

今回の調査で、母乳中のTCS濃度を3か国で比較すると、ほぼ同範囲で分布していることがわかる。母乳中のTCS濃度はスウェーデンで最初に調査され、そのときの濃度はnd(未検出)~300 ng/g lipidで (Adolfsson-Erici et al 2002)、今回の調査結果とほぼ同範囲にある。米国での調査では、母乳中に0~2100 ng/g lipidの範囲で検出されている (Dayan 2007)。最近のオーストラリア人の母乳中TCS濃度は平均1.3 ng/g milkと報告されている (Toms et al 2011)。この値を脂肪量あたりの濃度に換算すると、脂肪含量を3%とした場合、43 ng/g lipidに相当

し、今回のアジアでの調査結果よりやや低い値である。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た。TCS含有製品の使用頻度が母乳濃度に影響していると考えられる。

乳児の1日の母乳の摂取量を800g/dayと仮定して日本の乳児の曝露量を計算すると、TCS母乳濃度77 ng/g lipid (約2.3 ng/g milkに相当)の場合、乳児のTCS摂取量は平均1.8 µg/day (最大値4.8 µg/day) と推定される。ラット授乳による仔のTCSのNOAELは50mg/kg/dayとされており (Dayan, 2007)、今回の値はこれの4桁低いレベルに相当する。このため現状ではTCS曝露が乳児に影響を与える可能性は低いと思われる。

2) 食事中のPOCs

今回調査したフェノール性ハロゲン化合物のうち、TCSは2009年の食事では、3か国ともほぼ同レベルを示した。3か国での生活用品のなかに含まれるTCSが環境中へ放出されたあと魚介類へ蓄積され、食品へ移行していると考えられる (Rüdel et al 2013)。TBPはTCSとほぼ同じ、または低い摂取量であった。2009年の食事では韓国で最もTBP摂取量が多く、中国、日本の順であった。TBPは海藻で生産、放出され、海洋魚で39 µg/kg dry wet と推定されている (Whitfield et al 1999)。一方で TBPは難燃剤としても使用され、ハウスダスト成分でもある (Suzuki et al 2008)。このため、TBPのヒト曝露は食事および吸入の両方を考慮する必要がある。

TBBPAは30検体中5検体から最大1080 ng/day が検出され、昨年度の調査結果と類似した。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(Watanabe et al 1983)。中国の食品では最大2ng/g wetのTBBPAが報告されている (Shi et al 2009)。今回の中国の食事でのTBBPA調査では1280 ng/dayを示し、Shiら(2009)の報告よりも高い値となっている(Shi et al 2009)。中国の食事の高いTBBPA値が母乳中濃度に反映されると推察される。事実、中国の母乳中のTBBPAは平均4.5 ng/g lipidで日本、韓国より濃度が高い。日本人の食事によるTBBPAの推定一日摂取量(EDI)は、英国の調査結果より高かった (Driffield et al 2008)。しかし、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。今回のTBBPAのEDI/ADI比はかなり低いため、母乳の乳児への影響は少ないと思われる。TBBPAは血液で短い半減期を有するため、母乳で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 (Hagmer et al 2000)。

OH-PBDEとして、2'-OH-BDE68および6-OH-BDE47を定量した。日本の食事では6-OH-BDE47のほうが比較的高濃度で検出されたが、韓国および中国の食事では2'-OH-BDE68のみが検出された。他の異性体は検出されないことから、これらPBDEの代謝物でなく、海洋生物由来 (Haraguchi et al., 2010) と考えられる。食事中にはこれらのOH体がメチル化された2'-MeO-BDE68および6-MeO-BDE47が検出されたが、これらの濃度比は母乳中の濃度比と大きく異なることから、両者の体内挙動に違いがあると予想される。OH-PBDEの体内曝露は、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., 2001) が

懸念されている。

環境中のPOCの動態については、環境微生物によるメチル化体の生成と食事中への混入に伴うヒト曝露が考えられる。たとえば、TCSは海洋細菌によりメチル化されmethyltriclosanとして魚介類で検出されている (Balmer et al 2004)。また、TBPやTBBPAは環境微生物によりメトキシ体へ変換する (Allard et al 1987; George and Haggblom 2008)。一方、TBPのメチル化体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に代謝されることが報告されている (太田ら 2010)。このため、環境中でPOCのメチル化体が生成し、食品混入によるヒト曝露により体内で再び脱メチルされる挙動 (代謝活性化) が考えられる (Wan et al., 2010; James et al., 2012)。対象となったPOCはいずれも内分泌かく乱性が指摘されているため、今後MeO体の動向を含めてモニタリングを継続する必要がある。

E. 結論

今回、汚染の懸念される物質として、トリクロサン関連物質を中心に調査した結果、フェノール性ハロゲン化合物のなかで、TCSが最も高濃度で食事および母乳から検出された。日中韓の3か国で比較するとTCS濃度差はみられないことから、生活用品に含まれるTCSが一様に食事経路でヒトに曝露され母乳に排泄されていると考えられる。TBP、TBBPAおよびPCPなどのPOCのほか、OH-BDEも検出されたが、日中韓でその分布に違いが見られた。OH-BDEはTCSと同じ骨格を有する臭素化合物であり、影響評価に関する報告は少ないので、そのヒト曝露量

についての動向と毒性評価を再検討したい。

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

Adolfsson-Erici, M.; Pettersson, M.;

Parkkonen, J.; Sturve, J.,
Triclosan, a commonly used
bactericide found in human
milk and in the aquatic
environment in Sweden.
Chemosphere 2002, 46:
1485-1489.

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.

Sci Total Environ 2006, 372:
87-93.

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. Environ
Sci Technol 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. Environ Sci
Pollut Res 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. J
Chromatogr A 2008, 1188:
132-139.

Dann, A. B.; Hontela, A., Triclosan:
Environmental exposure,
toxicity and mechanisms of
action. J Appl Toxicol 2011,
31: 285-311.

Dayan, A. D., Risk assessment of
triclosan [Irgasan®] in
human breast milk. Food
Chem Toxicol 2007, 45:
125-129.

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.; 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* 2012,162: 269-274.
- 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. *Environ Int* 2014,63: 19-25.
- George, K. W.; Haggblom, M. M., Microbial O-methylation of the flame retardant tetrabromobisphenol-A. *Environ Sci Technol* 2008,42: 5555-5561.
- 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.; 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.
- 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 Toxicol* 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.
- 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.
- Miyazaki, T.; Yamagishi, T.; Matsumoto, M., Residues of 4-chloro-1-(2,4-dichlorophenoxy)-2-methoxybenzene (triclosan methyl) in aquatic biota. *Bull Environ Contam Toxicol* 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. *Anal Chim 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.
- Rodricks, J.V., Swenberg, J.A.,
Borzelleca, J.F., Maronpot,
R.R., Shipp, A.M., Triclosan: a
critical review of the
experimental data and
development of margins of
safety for consumer products.
Crit Rev in Toxicol 2010,
40:422-484.
- Rüdel, H.; Böhmer, W.; Müller, M.;
Fliedner, A.; Ricking, M.;
Teubner, D.;
Schröter-Kermani, C.,
Retrospective study of
triclosan and
methyl-triclosan residues in
fish and suspended
particulate matter: Results
from the German
Environmental Specimen
Bank. Chemosphere 2013,
91:1517-1524.
- 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.
- Toms, L. M. L.; Allmyr, M.; Mueller,
J. F.; Adolfsson-Erici, M.;
McLachlan, M.; Murby, J.;
Harden, F. A., Triclosan in
individual human milk
samples from Australia.
Chemosphere 2011, 85:
1682-1686.
- 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., The flame
retardant
tetrabromobisphenol A and
its metabolite found in river
and marine sediments in
Japan. Chemosphere 1983,
12: 1533-1839.
- 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 breast milk samples collected in Korea, China and Japan.

Area	year	n	Age (range)	Parity	Lipid %
Seoul	2010	10	32.1 (30-38)	2.0	2.0
Beijing	2009	10	27.8 (25-30)	1.0	2.5
Kyoto	2010	10	31.6 (21-37)	1.6	3.1

Table 2. Information of dietary homogenates in duplicate diet study from Seoul (Korea), Beijing (China) and Kyoto (Japan), 1990 and 2009.

Area	Sampling year	Number of pooled	Age	Dietary homogenate (g)	Lipid (%) of homogenate
Seoul	1990	10 (5 pooled)	37.8(35.8-45.6)	1777	0.73
	2009	10 (5 pooled)	35.8 (33.6-41.6)	2062	1.70
Beijing	1990	10 (5 pooled)	35.5 (33.0-38.4)	2249	1.30
	2009	10 (5 pooled)	26.5 (25.8-27.8)	3054	2.34
Kyoto	1990	10 (5 pooled)	21.6 (21.0-21.8)	1693	1.57
	2009	10 (5 pooled)	26.6 (22.0-36.0)	1579	1.75

Table 3. 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)		
Ionization mode	ion source (150 °C for ECNI, 230 for EI)		
Ionization mode	Electron ionization (EI) and electron capture negative ionization (ECNI)		
Reagent gas	Methane for ECNI		
Analytes	GC t _R (min)	Target ion (m/z)	LOQ* (ng/mL)
4,4'-DDE	12.76	318 (316)**	1.0 (EI)
HCB	9.47	284 (286)	0.1(ECNI)
β-HCH	9.65	71 (255)	0.2(ECNI)
<i>trans</i> -chlordane	11.77	412 (410)	0.2(ECNI)
PCB153	13.75	360(362)	0.5(EI)
Triclosan (methylated)	12.14	302 (304)	0.1(EI)
TBP (methylated)	8.90	79 (81)	0.05(ECNI)
PCP (methylated)	9.52	278 (280)	0.05(ECNI)
TBBPA (methylated)	22.13	79 (81)	10(ECNI)
2'-OH-BDE68 (methylated)	17.74	79 (161)	0.2(ECNI)
6-OH-BDE47 (methylated)	18.29	79 (161)	0.2(ECNI)
4-OH-[¹³ C]-PCB187	17.38	438 (422)	0.2(ECNI)
α- [¹³ C] endosulfan (IS)	12.40	385 (387)	0.1(ECNI)
¹³ C-triclosan (methylated)	12.14	314 (316)	0.1 (EI)
¹³ C-methyltriclosan	12.14	314 (316)	0.1 (EI)

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

Table 4. Concentration of selected organohalogen compounds in breast milk from Korea, China and Japan.

Congener	Concentration (ng/g lipid, mean± SD)		
	Korea (Seoul)	China (Beijing)	Japan (Kyoto)
<i>phenolic</i>			
triclosan (TCS)	49±29 (13-101)	45±61 (13-217)	77±69 (16-199)
2,4,6-tribromophenol (TBP)	19±20 (4.0-7.3)	25±30 (6.9-89)	4.3±3.0 (1.4-12)
pentachlorophenol (PCP)	0.6±0.4 (0.1-1.5)	0.8±1.0 (0.2-3.2)	1.1±1.1 (nd-3.8)
2'-hydroxy-BDE68	0.1±0.2 (nd-0.8)	0.0±0.1 (nd-0.3)	nd
6-hydroxy-BDE47	nd	nd	nd
tetrabromobisphenol A (TBBPA)	0.3±0.7 (nd-2.1)	4.5±13 (0.0-4.0)	2.4±4.6 (nd-15)
<i>POPs</i>			
4,4'-DDE	116±115 (17-413)	2067±1409 (172-4977)	125±77 (38-242)
β-HCH	13.4 ±8.7 (4.9-34)	315±198 (0.0-728)	25±16 (7.1-46)
hexachlorobenzene (HCB)	49±14 (22-68)	221±90 (51-346)	63±20 (38-93)
trans-nonachlor (t-NC)	2.4±1.2 (0.7-4.4)	2.2±1.0 (0.9-4.5)	16±8.5 (7.8-33)
PCB153	18±10 (4-35)	24±12 (7.1-43)	60±39 (19-128)

Table 5. Mean dietary intake (ng/day) of organohalogen congeners by women in Korea, China and Japan

Congeners	Mean dietary intake ng/day					
	Korea (seoul)		China (Beijing)		Japan (Kyoto)	
	1990	2009	1990	2009	1990	2009
<i>phenolic</i>						
triclosan (TCS)	1474	3346	3308	3731	2470	3346
2,4,6-tribromophenol (TBP)	890	2336	1134	1328	1804	925
pentachlorophenol (PCP)	371	587	3143	567	868	94
2'-hydroxy-BDE68	54	30	8	113	394	7
6-hydroxy-BDE47	nd	nd	nd	nd	7463	197
tetrabromobisphenol A (TBBPA)	953	327	1449	1280	322	566
<i>POPs</i>						
4,4'-DDE	579	11162	11236	993	1509	394
beta-HCH	159	244	2041	355	236	60
hexachlorobenzene (HCB)	519	3485	2536	4555	1824	747
trans-nonachlor (t-NC)	26	352	16	3	244	49
PCB153	59	661	53	27	554	169

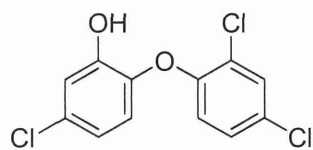


Fig. 1 Structure of TCS

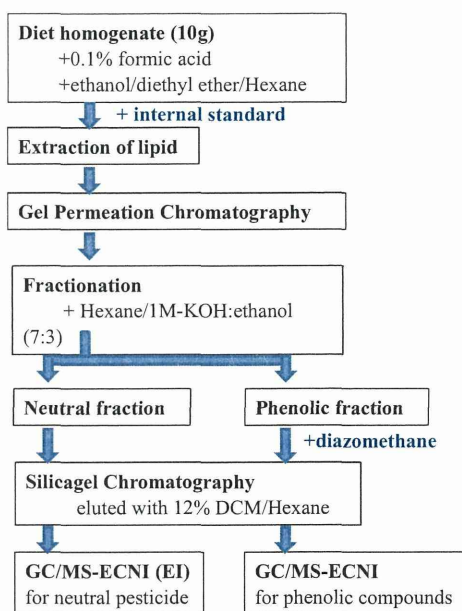


Fig. 2 Analytical methods for neutral and phenolic organohalogen pesticides in breast milk and dietary homogenates.

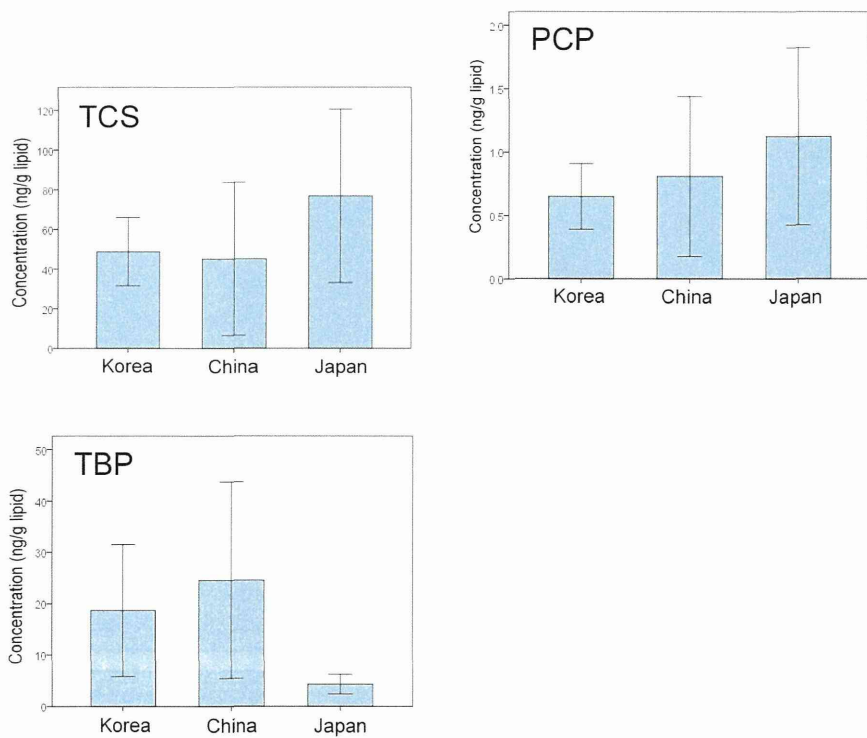


Fig. 3 Comparison of concentrations of POCs in breast milk from Korea, China and Japan.

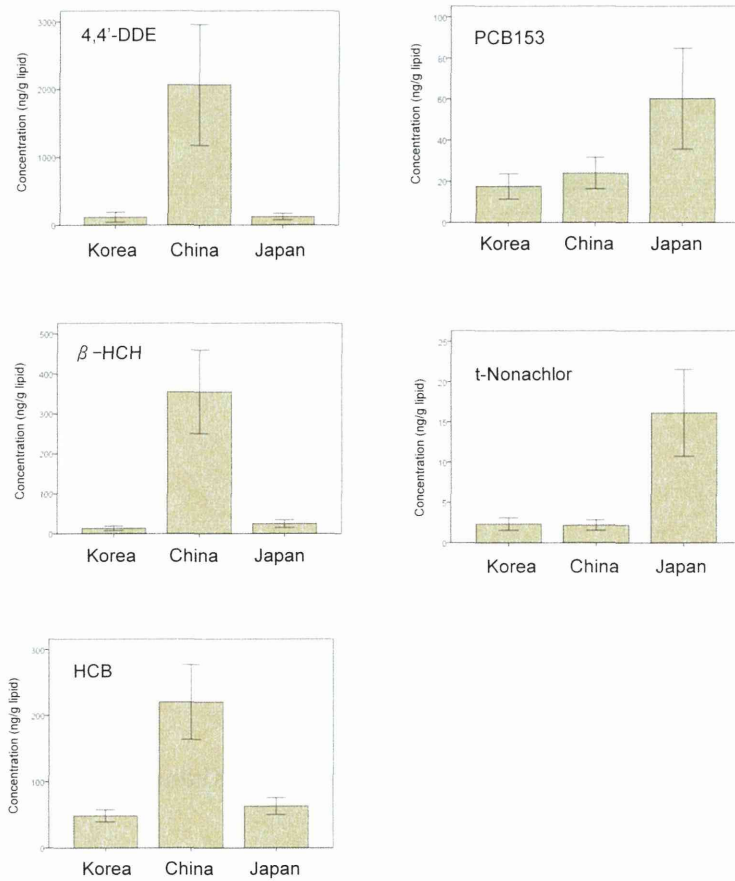


Fig. 4 Comparison of POPs concentrations in breast milk from Korea, China and Japan.