

エコチル調査における分析項目 -日本人の血中 PBDE 異性体の選定-

○今枝大輔<sup>1</sup>、中山祥司<sup>2</sup>、柴田康行<sup>2</sup>、橋本俊次<sup>2</sup>、田中和徳<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>いであ株式会社、<sup>2</sup>国立環境研究所、<sup>3</sup>シグマアルドリッチジャパン株式会社)

## 【はじめに】

我々の日常生活は、医薬品・化学繊維・食品添加物・合成樹脂・農薬など様々な化学製品によって支えられている。現在、全世界で登録されている化学物質は数千万種類あり、その数は年々増加している。これらの中には人体に有害影響を与える物質も含まれており、それら有害化学物質による健康への影響が懸念されている。中でも残留性有機汚染物質 (POPs) はその難分解性・生物蓄積性・生体毒性の観点から、2004 年に発効された「ストックホルム条約」(POPs 条約) により国際的な監視と管理・削減が義務付けられており、大きな関心を集めている。

これまで POPs による人への曝露実態調査は、癌や心筋梗塞など疾病を発症したあるいは予備軍の成人を中心に進められてきたが、子どもに関する調査はほとんど実施されていなかった。成長過程にある子どもは、免疫系や内分泌系などの生理機能が成人に比べ脆弱であるため、POPs など外因性化学物質の影響を受けやすいことが指摘されている。そのため最近では、「子どもの健康」に焦点を当てた大規模調査が欧米を中心に進められている。日本でも昨年より、10 万組の親子に関して胎児期から 13 歳までの期間を追跡調査する「子どもの健康と環境に関する全国調査」(エコチル調査) が環境省事業として開始された<sup>1</sup>。

エコチル調査では、子どもの健康に化学物質等がどのような影響を与えるか解明することを目的としている。化学物質への曝露を評価するため生体試料(血液、尿、母乳等)の採取も実施している。しかしながら分析対象化学物質は多岐にわたっており、それらを限られた試料で精度よく分析しなければならないため、一つの分析項目に対して十分な試料量を担保できないことが予想される。POPs は最重要項目の一つで、詳細なデータが要求されるが、中にはポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDEs) やポリ塩素化ビフェニル (PCBs) 等のように多くの異性体をもつ物質群も存在する。このような物質群の全異性体を分析することは、前述した試料量の関係から不可能であるため、全濃度の 7~8 割を担保できる日本人特有の異性体のみを分析する方法が提案されている<sup>2</sup>。PCBs に関しては POPs 条約発効以前から全国規模の調査が実施されておりデータの蓄積があるが、PBDEs は新規 POPs として 2009 年より条約に組み入れられたため、主要異性体を選別するための蓄積データが乏しい。そこで、本発表では日本人血中 PBDEs の異性体パターンを把握し、エコチル調査で分析すべき異性体を検討した。またエコチル調査では、一つの項目につき数千~数万という膨大な試料を処理しなければならないため、ハイスループットな前処理法が必要となる。本発表では PBDEs 分析のための血漿試料前処理法についてもあわせて言及する。

## 【方法】

試料は、エコチルパイロット調査で採取された血漿と、標準試料作製用の血漿を用いる予定である。

---

### Target chemicals for Japan Environment and Children's Study – Prioritization of PBDE isomers –

<sup>1</sup> IMAEDA D., <sup>2</sup> NAKAYAMA S.F., <sup>2</sup> SIBATA Y., <sup>2</sup> HASHIMOTO S., <sup>3</sup> TANAKA K.

<sup>1</sup> IDEA Consultants, Inc., <sup>2</sup> National Institute for Environmental Studies, <sup>3</sup> Sigma-Aldrich Japan

分析法の検討にはプールしたブタ血清試料を用い、方法は既報<sup>3</sup>を参考に、一部を改良し実施した。ブタ血清 (1 mL) にクリーンアップスパイク (ノナンベース) を添加後、よく混合し一晩静置した。1%ギ酸/アセトニトリル溶液を加え、ボルテクス攪拌・超音波抽出・遠心分離した後、上清を固相抽出カートリッジ (Supel-Select HLB, 200mg, 6cc) に通した。0.1M HCl/5% MeOH/MiliQ 溶液にてカートリッジ内洗浄後、遠心・マニホールド吸引によってカートリッジ内の水分を完全に除去し、その後ジクロロメタンで PBDEs を溶出した。溶出液を濃縮・ヘキサン転溶し、44%H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> シリカゲルでクリーンアップした。クリーンアップ後の溶液を極少量まで濃縮し、シリンジスパイク (ノナンベース) を加え高分解能 GC-MS で定性・定量した。

表1. 除タンパク試薬による回収率(%)の比較 (n=2)

Isomer	1%ギ酸/アセトニトリル(本方法)	50%ギ酸/MiliQ(一般的手法)
	平均値 ± 標準偏差	平均値 ± 標準偏差
<sup>13</sup> C-MoBDE 3	42 ± 0.83	43 ± 12
<sup>13</sup> C-DiBDE 15	92 ± 7.3	75 ± 12
<sup>13</sup> C-TriBDE 28	94 ± 2.3	75 ± 11
<sup>13</sup> C-TeBDE 47	91 ± 0.29	76 ± 6.9
<sup>13</sup> C-PeBDE 99	81 ± 15	71 ± 16
<sup>13</sup> C-PeBDE 100	87 ± 10	77 ± 18
<sup>13</sup> C-PeBDE 126	79 ± 23	75 ± 12
<sup>13</sup> C-HxBDE 153	96 ± 10	68 ± 13
<sup>13</sup> C-HxBDE 154	95 ± 3.8	77 ± 17
<sup>13</sup> C-HpBDE 183	71 ± 3.0	61 ± 12
<sup>13</sup> C-HpBDE 197	74 ± 2	68 ± 4
<sup>13</sup> C-HpBDE 207	70 ± 2	72 ± 5
<sup>13</sup> C-HpBDE 209	54 ± 1	57 ± 8

### 【結果】

本分析法に関して既報との大きな変更点は、除タンパク試薬にアセトニトリルを使用している点である。タンパクにアセトニトリルを加えると、タンパク沈殿が起こるためこれらを遠心分離で除去でき、余分な夾雑物とカートリッジの目詰まり問題をクリアできる。表 1 に示すとおり、回収率に関しても良好であった。また Native 体 DecaBDE のピーク強度は本方法で 4 倍高く、血漿/血清の分析法としての有用性が確認された。

日本人血中 PBDEs の異性体選定に関して Uemura らの報告によれば、西日本に住む 72 人の成人男女血液中の PBDE 異性体 27 種類を分析すると、BDE-15, 28, 47, 49, 99, 100, 119, 153, 154, 196, 197, 207, 209 の 13 異性体で合計濃度の 96% をカバーできることがわかった<sup>4</sup> (図 1)。これらの異性体は、ジメチルポリシロキサン系 (DB1, BP1 など) および 5% フェニルジメチルポリシロキサン系 (DB5, BP5 など) の GC キャピラリーカラム (長さ 15 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.1 μm) で分離できることがわかっている。以上の情報を参考に今回の発表ではエコチルパイロット調査等のデータを示す。

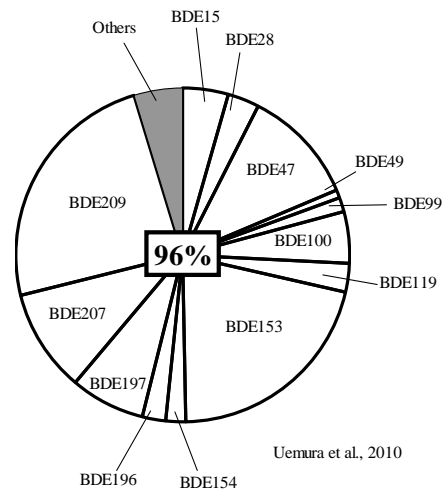


図1. 西日本に住む日本人血中PBDEs異性体組成

### 【謝辞】

本発表は環境省事業である「子どもの健康と環境に関する全国調査」の受託業務の一環として実施した内容である。

### 【参考文献】

- 1 環境省「子どもの健康と環境に関する全国調査 エコチル調査」ホームページ (URL: <http://www.env.go.jp/chemi/ceh/>)
- 2 Satoh et al., (2010) *Organohalogen Compounds* 72, 1812-1815
- 3 Sjödin et al., (2004) *Analytical Chemistry* 76, 1921-1927
- 4 Uemura et al., (2010) *Chemosphere* 79, 706-712