

分担研究報告書

ダイオキシン類の個別食品の汚染実態調査

分担研究者 飯田 隆雄

(福岡県保健環境研究所)

厚生労働科学研究費補助金(食品・化学物質安全総合研究事業)  
分担研究報告書

ダイオキシンの汚染実態把握及び摂取低減化に関する研究  
(2)ダイオキシン類の個別食品の汚染実態調査

分担研究者 飯田隆雄 福岡県保健環境研究所

### 研究要旨

魚介類, 畜産物, 野菜・果実, およびそれらの加工品等 158 試料について, WHO が毒性等価係数(TEF)を定めた PCDDs 7 種, PCDFs 10 種および Co-PCBs 12 種の計 29 種のダイオキシン類濃度を調査した。

その結果, 鮮魚(31 試料)から, 0.028 ~ 18.939 pgTEQ/g (平均 1.862 pgTEQ/g), 魚干物(16 試料)から, 0.292 ~ 1.946 pgTEQ/g (平均 0.910 pgTEQ/g) のダイオキシン類が検出された。畜産食品と乳製品では, 馬肉(4.696 pgTEQ/g)を除いて 0.347 pgTEQ/g 以下であった。植物性食品(76 試料)中 48 試料では, ダイオキシン類濃度は 0.001 pgTEQ/g 未満であった。0.001 pgTEQ/g 以上検出されたものでも動物性食品に比べて低い値であり, 0.100 pgTEQ/g 以上検出されたものは, 小松菜(0.101 pgTEQ/g), ビスケット(0.164 pgTEQ/g), 乾燥海苔およびひじき(0.133 ~ 0.199 pgTEQ/g) の 6 試料だけであった。

市販ベビーフード51品目(51試料)についても同様にダイオキシン類濃度を調査した結果, 14 試料では, 0.001 pgTEQ/g 未満であった。0.010 pgTEQ/g 以上検出されたのは 21 試料であり, 最も濃度が高かったものは 0.135 pgTEQ/g であった。濃度が高かったベビーフードの多くは, 魚介類を含むものであった。

### 研究協力者

福岡県保健環境研究所

中川礼子, 堀 就英, 飛石和大

(財)日本食品分析センター

内部博泰, 中村宗知, 柳 俊彦, 河野洋一

国立医薬品食品衛生研究所

佐々木久美子, 堤 智昭, 天倉吉章

### A. 研究目的

一般人のダイオキシン類への主な暴露源は, 食品であることが知られている。本研究では個別食品中のダイオキシン類汚染実態を把握し, 個人別の暴露量をより正確に評価するために, 魚介類をはじめとして, 食肉, 野菜・果実類, 卵, 乳およびそれらの加工品について, ダイオキシン類含有量を調査した。さらに, 平成13年度に引き続き, 乳児のダイオキシン類暴露量を把握するために, 市販ベビ

ーフード中のダイオキシン類含有量を調査した。

### B. 研究方法

#### 1. 試料

一般食品:平成13および14年度に採取した国内産食品(125 試料)および輸入食品(33 試料)を対象とした。国内産食品は東京, 大阪および福岡で購入した。輸入食品は東京および福岡で購入, または福岡, 神戸, 関西空港および東京検疫所から入手した。

ベビーフード:瓶詰め等の市販ベビーフードから, 飲料, 果実・野菜加工品, ご飯もの, 麺・パスタ類, カレー, おかず類, おやつの各種食品 51 品目, 51 試料を購入した。品目は, 動物性食材を含むものを主に選択した。

#### 2. 試験項目および検出限界

WHO が毒性等価係数(TEF)を定めた PCDDs 7 種, PCDFs 10 種および Co-PCBs 12 種の計 29

種を分析対象とした。

( )内の数字は検出限界(pg/g)を示す。但し、ドレッシングは分析に使用する試料量を少なくしたため検出限界が異なる(4,5 塩素化ダイオキシン: 0.05, 6,7 塩素化ダイオキシン: 0.1, 8 塩素化ダイオキシン: 0.2, ノンオルト PCB: 0.5, モノオルト PCB: 5)。

#### PCDDs

- 2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7,8-PeCDD (0.01)
- 1,2,3,4,7,8-HxCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDD, 1,2,3,7,8,9-HxCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD (0.02)
- 1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD (0.05)

#### PCDFs

- 2,3,7,8-TCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF, 2,3,4,7,8-PeCDF (0.01)
- 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,7,8,9-HxCDF, 2,3,4,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF (0.02)
- 1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF (0.05)

#### Co-PCBs

- 3,3',4,4'-TCB(#77), 3,4,4',5-TCB(#81), 3,3',4,4',5-PeCB(#126), 3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169) (0.1)
- 2,3,3',4,4'-PeCB(#105), 2,3,4,4',5-PeCB(#114), 2,3',4,4',5-PeCB(#118), 2',3,4,4',5-PeCB(#123), 2,3,3',4,4',5-HxCB(#156), 2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157), 2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167), 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189) (1)

### 3. 試験方法

「食品中のダイオキシン類測定方法ガイドライン」(平成 11 年 10 月)に従って分析した。なお、穀類・野菜・果実試料の抽出には、高速溶媒抽出装置を使用した。

### 4. 分析結果の表記

測定結果は、湿重量あたりの毒性等量(pgTEQ/g)で示した。検出限界以下の異性体濃度はゼロとして計算した。

## C. 研究結果および考察

### 1. 一般食品の調査結果

各食品の調査結果を表 1 に示した。

### ①魚介類

生鮮魚類(いかなご, うなぎ, かじきまぐろ, かたくちいわし, かつお, かれい, 金目鯛, さけ, さば, しらす, すずき, たちうお, たら, にじます, ひらめ, ぶり, ほっけ, 真鯛, わかさぎ) 31 試料のダイオキシン類濃度の平均値は 1.862 pgTEQ/g であり, 平成 13 年度の調査結果の平均値(0.600 pgTEQ/g)より高かったが, 「厚生科学研究:ダイオキシン類の食品経路総摂取量調査研究」報告書に示された平成 11 および 12 年度の調査結果の平均値 1.756 および 2.002 pgTEQ/g とは同レベルであった。調査対象魚種が年度によって異なることから, 経年変化ととらえることはできない。

塩干物(金目鯛開き, 塩さけ, 塩さば, ししゃも, ほっけ開き, めざし)のダイオキシン類濃度の平均値は 0.910 pgTEQ/g であった。煮干しは 1.252 および 4.657 pgTEQ/g であった。

生鮮魚および塩干物中のダイオキシン類濃度に占める Co-PCBs の平均割合は, それぞれ 77.0% および 68.1 % であり, 何れも Co-PCB が PCDD/Fs より多かった。

### ②畜産食品

今年度は, 手羽先, 鶏皮, 馬肉各 2 試料, 牛タン, 豚腸, ソーセージ, ベーコン, サラミ, コーンビーフ各 1 試料, うずら卵 2 試料およびチーズ, ヨーグルト各 1 試料を調査した。調査件数が少ないので, 平均値について考察はできないが, ソーセージ, ベーコン, 牛タン, 鶏皮, うずら卵, チーズについては, 平成 10 ~ 12 年度に前記の厚生科学研究で実施された調査結果と同レベルの値であった。

最も高濃度に検出されたのは馬肉の 1 試料(4.696 pgTEQ/g)であった。

### ③穀類・野菜・果実

植物性食品 76 試料中 48 試料のダイオキシン類濃度は 0.001 pgTEQ/g 未満であった。それ以上検出されたものでも動物性食品に比べて低い値であった。

平成 10 ~ 12 年度に調査された穀類・野菜・果実の中で, ダイオキシン類濃度が比較的高かったのは葉菜類であったが, 今回調査した小松菜と春

菊では、小松菜の 1 試料(0.101 pgTEQ/g)を除いてダイオキシン類はほとんど検出されなかった。

うどん、食パン、砂糖、酢、ドレッシング、コーヒー豆、ごま、アーモンド、ブルーベリー(乾燥)、ビスケット、漬物、計 23 試料中 22 試料では、0.022 pgTEQ/g 以下の濃度であった。

ビスケットの 1 試料では 0.164 pgTEQ/g であった。ビスケットは原材料にバター等を含むため、比較的濃度が高かったものと考えられる。

乾燥海苔とひじき(4試料)からは、0.133 ~ 0.199 pgTEQ/g のダイオキシン類が検出された。魚の場合と異なり、Co-PCBよりも PCDD/Fs の比率が高かった。平成 10 ~ 13 年度に調査された乾燥海藻(昆布、わかめ、ひじき) 10 試料と比較すると、昆布の 0.631 pgTEQ/g に次ぐ高い値であった。

## 2. ベビーフードの調査結果

ベビーフードの調査結果を表 2 に示した。

平成 13 年度の調査では、販売実績データ(TOPPAN POS DATA Navigation System)を参考に、売上げが多い品目を選択して調査したが、14 年度は、13 年度の調査結果を参考に、ダイオキシン類濃度が比較的高かった動物性食材を含むベビーフードを主に選択して調査を行った。

51 品目(51 試料)を分析した結果、14 試料では、0.001 pgTEQ/g 未満であった。ダイオキシン類が 0.010 pgTEQ/g 以上検出されたのは、21 試料であった。これらの食品は主にいわしやかれいなどの魚類を原材料に含む食品であり、最高濃度は煮物(いわし、野菜)の 0.135 pgTEQ/g、次いで、煮物(いわし、大根)の 0.080 pgTEQ/g であった。

これらの濃度は、平成 13 年度および今年度調査の生鮮魚のダイオキシン類濃度(平均値: 0.600 および 1.862 pgTEQ/g)に比べて、非常に低かった。原料魚の種類による差および魚の含有量が少ないため、魚を含んでいるベビーフードであっても、ダイオキシン類濃度が低かったものと考えられる。

果実・野菜加工品では多くの異性体が不検出であったため、「ほうれんそう、ジャガイモ」の 0.039 pgTEQ/g を除いて、ダイオキシン類濃度は 0.001 pgTEQ/g 以下であった。

おやつ類の中にも 0.001 ~ 0.076 pgTEQ/g 検

出されたものがあつたが、これらの食品は水分含量が少ないため、野菜、乳製品等の原材料に含まれるダイオキシン類が濃縮された結果と考えられる。

ベビーフードの種類別平均値は、果実・野菜加工品: 0.007 pgTEQ/g、ご飯もの: 0.008 pgTEQ/g、麺・パスタ類: 0.017 pgTEQ/g、カレー・おかず類: 0.021 pgTEQ/g/pgTEQ/g、おやつ: 0.020 pgTEQ/g であった。

ベビーフード中のダイオキシン類濃度を仮に 0.020 pgTEQ/g として、体重 7 kg の乳児がこれを 1 日に 3 回、毎回 100 g 摂取すると仮定すると、ダイオキシン類の 1 日摂取量は 0.86 pgTEQ/kg bw/day となり、日本における耐容 1 日摂取量(TDI)の 4 pgTEQ/kgbw/day を下回っていることが分かる。

なお、全異性体が不検出であった場合、検出限界値の 1/2 の値を当てはめて算出したダイオキシン類濃度は、0.027 pgTEQ/g となる。

## D. 結論

1. 魚介類、野菜・果実等の各種食品 158 試料について、ダイオキシン類濃度を調査した結果、生鮮魚類から平均 1.862 pgTEQ/g のダイオキシン類が検出された。植物性食品中 64 %の試料ではダイオキシン類濃度は 0.001 pgTEQ/g 未満であった。また、検出された値は動物性食品に比べて低かった。

2. 市販のベビーフード 51 品目(51 試料)について調査した結果、14 試料は 0.001 pgTEQ/g 未満であり、0.010 pgTEQ/g を超えたのは 21 試料であった。魚を含むベビーフードからは、比較的高い濃度のダイオキシン類が検出され、最高値は 0.135 pgTEQ/g であった。

個別食品のダイオキシン類濃度データを用いて年齢別、多食者の場合など、きめ細かな暴露量評価が行えるように、特に高濃度汚染が懸念される食品を中心に、今後もダイオキシン類調査データを集積する必要がある。

## 【参考文献】

1) 厚生科学研究「ダイオキシン類の食品経路総摂取量調査研究」(平成 10 ~ 12 年度)総合研究報告書

- 2) 厚生科学研究「ダイオキシン類の食品経路総摂取量調査研究」平成 11 年度研究報告書
- 3) 厚生科学研究「ダイオキシン類の食品経路総摂取量調査研究」平成 12 年度研究報告書
- 4) 厚生労働科学研究「ダイオキシンの汚染実態の把握及び摂取低減化に関する研究」平成 13 年度研究報告書

#### E. 研究業績

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

- 1) 堤 智昭\*<sup>1</sup>, 飯田隆雄\*<sup>2</sup>, 堀 就英\*<sup>2</sup>, 中川礼子\*<sup>2</sup>, 飛石和大\*<sup>2</sup>, 柳 俊彦\*<sup>3</sup>, 中村宗知\*<sup>3</sup>, 河野洋一\*<sup>3</sup>, 内部博泰\*<sup>3</sup>, 豊田正武\*<sup>4</sup>, 天倉吉章\*<sup>1</sup>, 佐々木久美子\*<sup>1</sup>, 米谷民雄\*<sup>1</sup>: 日本における市販食品中のダイオキシン類汚染

日本薬学会第123年会 (2003.3)

\*1国立医薬品食品衛生研究所

\*2福岡県保健環境研究所

\*3 (財) 日本食品分析センター

\*4 実践女子大学

表1 平成14年度 食品中のダイオキシン類の濃度 (pgTEQ/g)

食品	産地	ダイオキシン類 (pgTEQ/g)			
		PCDD/Fs	Co-PCB	Total	
魚介類	いか	輸入	0.002	0.024	0.026
	いかなご	国産	0.275	0.442	0.716
	うなぎ	国産	0.227	0.375	0.602
	うなぎ	国産	0.239	0.660	0.899
	かじきまぐろ	輸入	0.012	0.164	0.176
	かたくちいわし	国産	0.384	0.565	0.949
	かたくちいわし	国産	0.425	0.568	0.993
	かつお	国産	0.200	0.718	0.917
	かつお	国産	<0.001	0.048	0.048
	かに(ずわい)	国産	0.209	0.376	0.585
	かに(たらば)	国産	0.055	0.064	0.118
	かれい(まこがれい)	国産	0.048	0.086	0.134
	金目鯛	輸入	0.002	0.109	0.111
	さけ	輸入	0.211	1.060	1.271
	さけ	輸入	0.346	0.989	1.335
	さば	国産	0.557	0.998	1.555
	しらす	国産	0.270	0.564	0.835
	しらす	国産	0.068	0.235	0.304
	すずき	国産	0.669	4.288	4.958
	すずき	国産	1.123	4.014	5.137
	たこ	輸入	<0.001	0.002	0.002
	たちうお	国産	1.064	3.847	4.910
	たちうお	国産	3.751	15.188	18.939
	たら	国産	0.002	0.065	0.067
	たら	国産	0.002	0.026	0.028
	にじます	国産	0.048	0.299	0.347
	にじます	国産	0.110	0.218	0.327
	ひらめ	国産	0.024	0.085	0.109
	ぶり	国産	1.007	2.572	3.578
	ぶり	国産	0.834	2.749	3.583
	ぶり	国産	0.931	2.290	3.221
ほっけ	国産	0.276	0.323	0.599	
真鯛	国産	0.084	0.324	0.408	
わかさぎ	国産	0.020	0.157	0.176	
わかさぎ	国産	0.072	0.425	0.497	
あさり	国産	0.032	0.029	0.061	

食 品		産 地	ダイオキシン類 (pgTEQ/g)		
			PCDD/Fs	Co-PCB	Total
魚介類 加工品	赤貝味付缶詰	国産	0.543	0.205	0.748
	赤貝味付缶詰	国産	0.450	0.177	0.628
	いわし味付缶詰	国産	0.009	0.159	0.168
	いわし味付缶詰	国産	0.025	0.196	0.221
	いわし甘露煮	国産	0.244	0.426	0.670
	いわし甘露煮	国産	0.285	0.441	0.726
	かまぼこ	国産	0.002	0.014	0.016
	魚肉ソーセージ	国産	<0.001	0.001	0.001
	金目鯛開き	国産	0.090	0.283	0.373
	金目鯛開き	国産	0.115	0.453	0.568
	塩から	国産	0.102	0.217	0.319
	塩さけ	輸入	0.489	1.457	1.946
	塩さけ	輸入	0.329	0.478	0.807
	塩さば	国産	0.185	0.455	0.640
	塩さば	国産	0.960	0.966	1.927
	塩さば	輸入	0.132	0.467	0.599
	塩さば	輸入	0.190	0.352	0.542
	ししゃも	国産	0.265	0.219	0.484
	ししゃも	国産	0.044	0.248	0.292
	ししゃも	輸入	0.530	0.730	1.260
	ししゃも	輸入	0.362	0.527	0.889
	するめ	国産	0.068	0.107	0.175
	するめ	国産	0.051	0.075	0.126
	煮干し	国産	0.334	0.917	1.252
	煮干し	国産	1.735	2.922	4.657
	ほっけ開き	国産	0.279	0.545	0.824
	ほっけ開き	国産	0.515	0.980	1.494
めざし	国産	0.246	0.530	0.776	
めざし	国産	0.136	1.010	1.146	
鯨肉	くじら	輸入	<0.001	0.030	0.030
畜産食品	牛タン	国産	0.130	0.049	0.179
	鶏皮	国産	0.050	0.078	0.127
	鶏皮	国産	0.133	0.214	0.347
	手羽先	国産	0.017	0.027	0.043
	手羽先	国産	0.002	0.014	0.016
	馬肉	国産	0.051	0.023	0.074
	馬肉	国産	2.876	1.820	4.696
	豚腸	国産	0.001	0.002	0.003
	ソーセージ	国産	0.008	0.002	0.010
	ベーコン	国産	<0.001	0.006	0.006
	サラミ	輸入	0.105	0.005	0.109
	コンビーフ	輸入	0.005	0.022	0.027
	うずら卵	国産	0.015	0.036	0.052
	うずら卵	国産	0.084	0.129	0.213
乳製品	チーズ(プロセス)	国産	0.032	0.033	0.066
	ヨーグルト(プレーン)	国産	0.077	0.032	0.108
加工品	ドレッシング	国産	<0.001	<0.001	<0.001

食 品		産 地	ダイオキシン類 (pgTEQ/g)		
			PCDD/Fs	Co-PCB	Total
穀類	米(精米)	国産 *	<0.001	<0.001	<0.001
野菜	アスパラガス	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	アスパラガス	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	きぬさやえんどう	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	キャベツ	国産 *	<0.001	<0.001	<0.001
	キャベツ	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	キャベツ	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	きゅうり	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	小松菜	国産	0.100	0.001	0.101
	小松菜	国産	0.001	<0.001	0.001
	小松菜	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	小松菜	国産	0.001	<0.001	0.001
	春菊	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	春菊	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	春菊	国産	<0.001	0.001	0.001
	春菊	国産	0.003	<0.001	0.003
	しいたけ	輸入	<0.001	<0.001	<0.001
	しいたけ	輸入	<0.001	<0.001	<0.001
	しめじ	国産 *	<0.001	<0.001	<0.001
	しめじ	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	しめじ	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	せり	国産	0.003	<0.001	0.003
	せり	国産	0.001	<0.001	0.001
	セロリ	国産	0.002	<0.001	0.002
	セロリ	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	セロリ	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	セロリ	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	だいこん	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	たけのこ	輸入	<0.001	<0.001	<0.001
	たけのこ	輸入	0.001	<0.001	0.001
	トマト	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	なす	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	なす	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	にんじん	国産	<0.001	<0.001	<0.001
白菜	国産	<0.001	<0.001	<0.001	
パセリ	国産	0.005	<0.001	0.005	
パセリ	国産	<0.001	<0.001	<0.001	
ブロッコリー	国産	<0.001	<0.001	<0.001	
ブロッコリー	輸入	<0.001	<0.001	<0.001	
山芋	国産 *	<0.001	<0.001	<0.001	
山芋(長芋)	国産	<0.001	<0.001	<0.001	
れんこん	国産	0.001	<0.001	0.001	



食 品		産 地	ダイオキシン類 (pgTEQ/g)		
			PCDD/Fs	Co-PCB	Total
果実	オレンジ	輸入 *	<0.001	<0.001	<0.001
	オレンジ	輸入 *	0.001	<0.001	0.001
	オレンジ	輸入 *	<0.001	<0.001	<0.001
	キウイフルーツ	輸入	<0.001	<0.001	<0.001
	なし	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	なし	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	なし	国産	<0.001	<0.001	<0.001
加工食品	アーモンド	輸入 *	<0.001	0.001	0.001
	アーモンド	輸入 *	<0.001	<0.001	<0.001
	アーモンド	輸入	<0.001	<0.001	<0.001
	うどん(ゆで麺)	国産 *	<0.001	<0.001	<0.001
	コーヒー豆(生鮮)	輸入 *	0.022	<0.001	0.022
	コーヒー(粉末)	輸入 *	0.004	<0.001	0.004
	ごま	輸入 *	<0.001	<0.001	<0.001
	ごま	輸入 *	<0.001	<0.001	<0.001
	食パン	国産 *	0.002	0.001	0.003
	食パン	国産 *	0.001	0.002	0.002
	食パン	国産 *	<0.001	<0.001	<0.001
	漬物(キムチ)	国産 *	0.001	<0.001	0.001
	漬物(キムチ)	国産 *	<0.001	<0.001	<0.001
	漬物(キムチ)	国産 *	0.001	<0.001	0.001
	漬物(たくあん)	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	漬物(キムチ)	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	ビスケット	国産 *	0.081	0.084	0.164
	ビスケット	国産 *	0.001	0.001	0.002
	プルーン(乾燥)	輸入 *	<0.001	0.021	0.022
	プルーン(乾燥)	輸入	0.001	<0.001	0.001
	砂糖	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	酢	国産	<0.001	<0.001	<0.001
	海苔(乾海苔)	国産 *	0.118	0.030	0.148
海苔(乾海苔)	国産	0.172	0.013	0.185	
海苔(乾海苔)	国産	0.186	0.013	0.199	
乾ひじき	国産	0.096	0.037	0.133	

\* : 平成13年度に試料採取したもの

表2 平成14年度 市販ベビーフード中のダイオキシン類の濃度 (pgTEQ/g)

食品	メーカー	ダイオキシン類 (pgTEQ/g)			
		PCDD/Fs	Co-PCB	Total	
飲料	ほうじ茶	D	<0.001	<0.001	<0.001
果実・野菜 加工品	ほうれんそう, 小松菜	D	<0.001	<0.001	<0.001
	ほうれんそう	I	<0.001	<0.001	<0.001
	混合野菜	I	<0.001	<0.001	<0.001
	ほうれんそう, 小松菜	E	0.001	<0.001	0.001
	ほうれんそう, ジャガイモ	E	0.039	0.001	0.039
	混合野菜	F	<0.001	<0.001	<0.001
ご飯もの	雑炊(ひらめ, 野菜)	D	<0.001	<0.001	<0.001
	ご飯(鮭, たまご)	C	<0.001	0.001	0.001
	雑炊(たら, しらす)	H	<0.001	<0.001	<0.001
	炊き込みご飯(たら, ひじき)	H	<0.001	<0.001	<0.001
	雑炊(シーフード)	F	<0.001	<0.001	<0.001
	雑炊(鮭)	F	<0.001	0.001	0.001
	ドリア(白身魚)	F	<0.001	0.031	0.031
	炊き込みご飯(鮭, にんじん)	B	<0.001	0.001	0.001
	雑炊(野菜, たら, 鶏肉)	B	<0.001	0.011	0.011
	雑炊(野菜, いわし)	I	<0.001	0.013	0.013
ドリア(野菜, かれい)	I	0.002	0.029	0.031	
麺, パスタ類	うどん(野菜)	C	<0.001	0.001	0.001
	グラタン(鮭, マグロ, 野菜)	C	<0.001	0.004	0.004
	パスタ(野菜, 鮭)	B	<0.001	0.002	0.002
	パスタ(鮭)	F	<0.001	0.011	0.011
	グラタン(ひらめ, ほうれんそう)	D	0.036	0.023	0.059
	グラタン(にんじん, かに)	I	0.015	0.025	0.040
	グラタン(野菜, ホタテ)	I	<0.001	<0.001	<0.001
カレー おかず類	カレー(ツナ, 野菜)	D	<0.001	0.001	0.001
	カレー(野菜)	B	<0.001	<0.001	<0.001
	煮物(鯛, 根菜)	D	<0.001	<0.001	<0.001
	煮物(鮭, 大根)	C	<0.001	0.012	0.012
	煮物(いわし, 野菜)	C	<0.001	0.023	0.023
	煮物(野菜, たら)	B	<0.001	0.011	0.011
	煮物(野菜, いわし)	B	0.001	0.023	0.024
	煮物(野菜, 鮭)	B	<0.001	0.001	0.001
	煮物(いわし, 野菜)	B	0.019	0.116	0.135
	煮物(野菜, 鶏肉)	B	<0.001	<0.001	<0.001
	煮物(いわし, 野菜)	F	0.005	0.024	0.029
	煮物(大根, たら)	F	<0.001	0.001	0.001
	煮物(レバー, 野菜)	F	<0.001	<0.001	<0.001
	煮物(鶏肉, レバー, 野菜)	F	<0.001	0.001	0.001
	煮物(いわし, 大根)	F	0.023	0.057	0.080
	煮物(豚肉, 野菜)	F	<0.001	0.010	0.010
	煮物(野菜, いわし)	I	<0.001	0.028	0.028
おやつ	ビスケット(野菜)	D	0.016	0.010	0.026
	せんべい(煮干し)	B	<0.001	0.001	0.001
	ポーロ(ほうれんそう)	B	0.001	<0.001	0.001
	ビスケット(チーズ)	F	0.014	0.012	0.027
	ビスケット(たまご)	F	0.001	0.001	0.001
	チーズ	F	<0.001	0.001	0.001
	ビスケット(ほうれんそう)	I	0.024	0.020	0.044
	クラッカー(野菜)	G	<0.001	<0.001	0.001
	クラッカー(ほうれんそう, にんじん)	E	0.039	0.036	0.076

分担研究報告書

ダイオキシン類の迅速測定法の開発及び  
分析の精密化に関する研究（その1）

分担研究者 豊田 正武

（実践女子大学）

厚生労働科学研究費補助金(食品・化学物質安全総合研究事業)  
分担研究報告書

ダイオキシンの汚染実態把握及び摂取低減化に関する研究

(3)ダイオキシン類の迅速測定法及び分析の精密化に関する研究  
(3-1)食品中のダイオキシン類測定迅速法の開発(Ah イムノアッセイ)

分担研究者 豊田正武 実践女子大学教授(元国立医薬品食品衛生研究所・食品部長)

研究要旨

市販魚中のダイオキシン類の毒性等量を推測するスクリーニング法として、Ahイムノアッセイキットの検討を行った。魚試料はアルカリ分解後、クリーンアップを行い、PCDD/Fs及びnon-ortho PCBs分画を本法により測定した。その結果、従来法であるHRGC/HRMS分析のPCDD/Fs及びnon-ortho PCBs毒性等量値と良好な相関が得られた( $r = 0.92$ )。さらに、従来法におけるmono-ortho PCBsを含めた総ダイオキシン類毒性等量に対しても相関は良好であった( $r = 0.88$ )。本法は、安価で簡便にダイオキシン類測定が可能であるため、ダイオキシン類のスクリーニング法として有用であると考えられる。しかしながら、操作ブランク値が高く認められ、低濃度汚染試料の数値化が困難であることが示唆された。今後は、より詳細なダイオキシン類測定に関する評価を行い、信頼性を高めていく必要があると考えられる。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所・食品部

堤 智昭、天倉吉章

株式会社 クボタ

中西俊夫、小林康男、山田隆生

株式会社 日新環境調査センター

芦枝和典

A.研究目的

ダイオキシン類の摂取は、そのほとんどが食事経由である。わが国では、特に魚介類を介したダイオキシン類の摂取が多いため<sup>1)</sup>、魚介類のダイオキシン類の毒性等量(TEQ)濃度を迅速に測定できる方法が開発されれば、食品衛生上有意義である。

ダイオキシン類は生体内において芳香族炭化水素レセプター(AhR)と結合する。その後、AhR nuclear translocator(ARNT)と複合体を形成し、特定のDNA領域(dioxin responsive element; DRE)と結合後、毒性を誘発すると考えられている。この毒性発現メカニズムを利用したダイオキシン類検出法の一つにAhイムノアッセイがある。本法はダイオキシン類とAhR、ARNT及びDREの複合体を、96ウェルマイクロプレートに固相化した後、ARNT

に対する抗体によりダイオキシン類の複合体を定量する方法である(図1)。本法の特徴としては下記の点が上げられる。

1. 分析時間が短時間である(約6時間)。
2. 培養細胞を使用しないため、特別な機器を必要としない。
3. 96ウェルマイクロプレートを使用して行うため、多数検体処理能を有する。
4. 既にキット化されているため、汎用性が高い。

従って、ダイオキシン類のスクリーニング法として、有用な特徴を有すると考えられた。そこで本研究では、Ahイムノアッセイによる、市販魚中のダイオキシン類測定の検討を行った。

B.研究方法

1.試薬、試液及び器具

Ahイムノアッセイのための前処理で使用するアセトン、ジクロロメタン、ヘキサン、メタノール、トルエンはダイオキシン類分析用(関東化学(株))を用いた。水酸化カリウム、塩化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、無水硫酸ナトリウム及び硫酸は関東化学(株)製の特級試薬を使用した。多層シリカゲルカラムは、PCB分析用(和光純薬工業(株))のシリカゲル、ダイオキシン類分析用(和光純薬工業(株))の

2%(w/w)水酸化カリウムシリカゲル、10%(w/w)硝酸銀シリカゲル、22%(w/w)硫酸シリカゲル及び44%(w/w)硫酸シリカゲルを使用し、食品のダイオキシン分析暫定ガイドライン<sup>2)</sup>に従って作製した。アルミナカラムは、ダイオキシン分析用(ICN社)を使用し、ガイドライン<sup>2)</sup>に従って作製した。硫酸シリカゲルカラムはガラス製カラム(内径15 mm & 長さ300 mm)に、シリカゲル(0.2 g)、44%硫酸シリカゲル(6 g)、及び無水硫酸ナトリウム(4 g)を順次、充填し作製した。また、Ah イムノアッセイのキットはクボタ(株)より購入した。

高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(HRGC/HRMS)分析で使用した溶媒は、全てダイオキシン類分析用(関東化学(株))を使用した。シリカゲルはPCB分析用(和光純薬工業(株))、10%硝酸シリカゲルはダイオキシン分析用(和光純薬工業(株))、アルミナはダイオキシン分析用(ICN社)、活性炭は活性炭分散シリカゲル(関東化学(株))を使用し、各カラムは食品のダイオキシン分析暫定ガイドライン<sup>2)</sup>に従い作製した。ダイオキシン類標準品はWellington社製を使用した。

## 2. 試料

魚試料は、東京都内のスーパーマーケットで購入した。筋肉部をホモジナイザーで均一化し使用した。

## 3. 装置

ホモジナイザーは(株)日本精機製作所製マルチブレンダーミルを用いた。また、吸光マイクロプレートリーダーはTECAN社製サンライズクラシックを、HRGC/HRMSは日本電子製(JMS-700)を使用した。

## 4. Ah イムノアッセイによる魚試料中のダイオキシン類測定

### 4-1) 前処理

均一化した魚試料(湿重量ベースで20 g)を採取し、2 mol/L 水酸化カリウム水溶液(約50 ml)を加え、アルカリ分解(室温で16時間)を行った。メタノール(50 ml)を加えた後、ヘキサン(50 ml)により振とう抽出(10分×3回)を行った。ヘキサン抽出液を、2%(w/v)塩化ナトリウム水溶液(50 ml)により2回洗浄後、少量の濃硫酸を加え、硫酸処理を行った。硫酸層に着色が認められなくなるまで、

繰り返し硫酸洗浄を行った後、2%(w/v)塩化ナトリウム水溶液(50 ml)により3回洗浄した。無水硫酸ナトリウムにより脱水後、減圧下で濃縮を行った。濃縮液は多層シリカゲルカラムに添加し、ヘキサン(220 ml)で溶出を行った。溶出液は減圧下で濃縮後、アルミナカラム(15 g)に添加し、ヘキサン(150 ml)で洗浄後、2%(v/v)ジクロロメタン/ヘキサン(200 ml)によりMono-*ortho* PCBs分画を溶出、さらに60%(v/v)ジクロロメタン/ヘキサン(200 ml)によりNon-*ortho* PCBs及びPCDD/Fs分画を溶出した。Non-*ortho* PCBs及びPCDD/Fs分画は減圧下で濃縮後、硫酸シリカゲルカラムに添加し、ヘキサン(100 ml)で溶出を行った。溶出液は減圧下で濃縮後、DMSO(20 µl)に置換し、Ahイムノアッセイに供した。なお図2に、前処理法の概略を示した。

### 4-2) Ah イムノアッセイ

Ah イムノアッセイの手順はキットの説明書に従った。2,3,7,8-TCDD 標準液あるいは前処理済の試料を、活性化 cytosol(AhR, ARNT 及び DRE を含む)と混合した(DMSO の最終濃度は1%)。96 ウェルプレートに混合液(200 µl/ウェル)を入れ、30°Cで2時間インキュベーションした。Wash Bufferで3回洗浄後、1次抗体液(200 µl/ウェル)をプレートに加え、30°Cで1時間インキュベーションした。その後、Wash Bufferで3回洗浄し、2次抗体(200 µl/ウェル)をプレートに加え、30°Cで1時間インキュベーションした。Wash Bufferで3回洗浄後、基質溶液(200 µl/ウェル)を加え、30°Cで30分間インキュベーション後、マイクロプレートリーダーにより吸光度(405 nm)を測定した。試料中のダイオキシン類濃度は、得られた吸光度からバックグラウンド(溶媒対照の吸光度)を差し引いた後、標準曲線の吸光度と比較し、2,3,7,8-TCDD換算量(Ah immunoassay-based TEQ)として表した。また、操作ブランク値が認められた場合は、試料の測定値よりブランク値を差し引き数値化した。

## 5. HRGC/HRMSによる魚試料中のダイオキシン類測定

平成13年度厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)分担研究報告書(1-2)(ダイオキシン類の迅速測定法の開発及び分析の精密化に関する研究)と同様に行った。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 前処理操作の確立

一部の Mono-ortho PCBs が多量に共存した場合、AhR に対するアンタゴニスト作用により本法で得られる測定値が抑制されることが指摘されている<sup>3)</sup>。魚試料では Mono-ortho PCBs が多量に存在する可能性がある。その結果、Mono-ortho PCBs 共存下では偽陰性の結果が得られることが予測され、スクリーニング法の性質として望ましくない。また、Mono-ortho PCBs は毒性等価係数 (TEF) が小さく総 TEQ 濃度中で占める割合が低い場合が多いことから、測定対象に含めなくても、おおよその TEQ 濃度を把握するには十分と考えられた。そこで本研究では、前処理操作においてアルミナカラムにより Mono-ortho PCBs を分離した後、Non-ortho PCBs 及び PCDD/Fs 分画を Ah イムノアッセイにより測定する方法を選択した (図 2)。前処理操作におけるダイオキシン類の回収率を、HRGC/HRMS により求めた結果を表 1 に示した。60%ジクロロメタン/ヘキサン分画 (測定対象分画) における Non-ortho PCBs 及び PCDD/Fs 異性体の回収率は 70%以上であり、良好な値であった。また、測定分画に Mono-ortho PCBs は、ほとんど回収されておらず、アルミナカラムの分画は良好であった。

### 2. 魚試料の測定

Ah イムノアッセイと、従来法である HRGC/HRMS 分析のダイオキシン分析の相関を検討するため、市販魚試料 (13 検体) に対して比較試験を行った (表 2)。同一の測定対象物 (Non-ortho PCBs 及び PCDD/Fs 測定値) に対して比較した場合、Ah イムノアッセイは従来法と比較し、2~3 倍の TEQ 値が得られる場合が多かった。しかし、従来法との相関は良好 ( $r = 0.92$ ) であり、これらダイオキシン類の TEQ 濃度を把握するためのスクリーニング法として期待できた (図 3(a))。さらに、Mono-ortho PCBs を含めたダイオキシン類の測定値と比較した場合も、良好な相関 ( $r = 0.88$ ) が得られたことから (図 3(b))、TEF が定められている全異性体の TEQ 濃度のスクリーニング法としても有用であることが示唆された。

本研究では並行して行った操作ブランクにブランク値が認められたため、魚試料の測定値はブランク値を差し引いて数値化した。ブランク値は試

料中の濃度に換算すると、5.1 pg Ah immunoassay-based TEQ/g に相当し、比較的高い値であった。従って、低濃度汚染の魚試料を数値化する際は、注意が必要であると考えられる。本研究では操作ブランクの試行回数が 1 回であるため、ブランク値のばらつきを考慮した本法の検出及び定量下限値は算出できない。高いブランク値が認められた原因としては、本法は AhR に結合しアゴニスト作用を発揮する化合物は全て検出してしまうため、このような作用を有する何らかの化合物が前処理操作中に混入し、ブランク値を上昇させたと考えられる。なお、操作ブランクにダイオキシン類の高濃度の汚染は認められなかった (データ未掲載)。

現在、日本においては食品中のダイオキシン類に関する規制値はない。しかし、EU では、2002 年 7 月より食品中ダイオキシン類の規制値が施行されている<sup>4)</sup>。将来、食品に対し規制値が定められた場合は、現在の公定法である HRGS/HRMS 分析だけで対処することは困難であり、スクリーニング法の開発が強く望まれている。今後は、ブランク試験を複数回行い検出・定量下限値の設定及び添加回収試験等のバリデーションデータの収集を図り、Ah イムノアッセイの食品中ダイオキシン類分析へ応用性を高めていくことが必要と考えられる。

## D. 結論

- 1) 従来法である HRGC/HRMS 分析と比較試験を行った結果、良好な相関 ( $r = 0.92$ ) が得られ、TEQ 量を推測するスクリーニング法として適した性質を有していた。
- 2) Ah イムノアッセイは簡便 (6 時間で測定) かつ安価 (1 検体あたり数万円) でダイオキシン類の測定が可能であり、食品中ダイオキシン類のスクリーニング法として期待できる。
- 3) 操作ブランク値が高く、低濃度の検体では数値化するにあたって注意が必要である。今後はブランク値を考慮した検出及び定量下限値の設定が必要であると考えられる。

## E. 参考文献

- 1) Tsutsumi T, Iida T, Hori T, Nakagawa R, Tobiishi K, Yanagi T, Kono Y, Uchibe H, Matsuda R, Sasaki K, Toyoda M. Update of daily intake of PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs from food in Japan.

- Chemosphere, 45 (2001) 1129-1137.
- 2) 厚生省生活衛生局“食品中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法暫定ガイドライン”平成 11 年 10 月
  - 3) 中西俊夫、小林康男、中尾晃幸、宮田秀明: Ah イムノアッセイ™によるダイオキシン類簡易測定技術の実証研究 -Ahレセプターに対する Co-PCBs のアンタゴニスト効果- 第 11 回環境化学討論会講演要旨集(2002) 84-85.
  - 4) EU, 2001. Commission proposes strategy to

reduce dioxin in food and feed, 20 July.

#### F. 研究業績

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

表1 前処理操作におけるダイオキシン類の回収率<sup>1)</sup>

	Compounds	Recovery, % (n = 1)	
		2%ジクロロメタン /ヘキサン	60%ジクロロメタン /ヘキサン(測定分画)
PCDDs	2378-TCDD	— <sup>2)</sup>	78.0
	12378-PeCDD	—	83.6
	123478-HxCDD	—	93.8
	123678-HxCDD	—	81.3
	123789-HxCDD	—	78.5
	1234678-HpCDD	—	78.7
	OCDD	—	76.9
PCDFs	2378-TCDF	—	77.5
	12378-PeCDF	—	82.3
	23478-PeCDF	—	86.8
	123478-HxCDF	—	80.1
	123678-HxCDF	—	90.2
	123789-HxCDF	—	90.0
	234678-HxCDF	—	79.6
	1234678-HpCDF	—	98.1
	1234789-HpCDF	—	85.4
	OCDF	—	85.2
Co-PCBs	Non-ortho 3,3',4,4'-TCB (#77)	—	78.0
	3,4,4',5-TCB (#81)	—	72.9
	3,3',4,4',5-PeCB (#126)	—	73.2
	3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	—	96.5
	Mono-ortho 2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	83.2	7.6
	2,3,4,4',5-PeCB (#114)	85.0	1.1
	2,3',4,4',5-PeCB (#118)	84.8	0.9
	2',3,4,4',5-PeCB (#123)	86.4	1.0
	2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	93.7	2.5
	2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	96.4	3.2
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	88.0	1.3	
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	91.7	1.4	

1) 既知量(40–200 pg)のダイオキシン類混合液をアルカリ分解液に添加し、一連の前処理を行った後、HRGC/HRMSにより回収率を算出した。なお、試料マトリックスを含まないため、アルカリ処理時間は0hrとした。

2) 未検出のため算出不能。

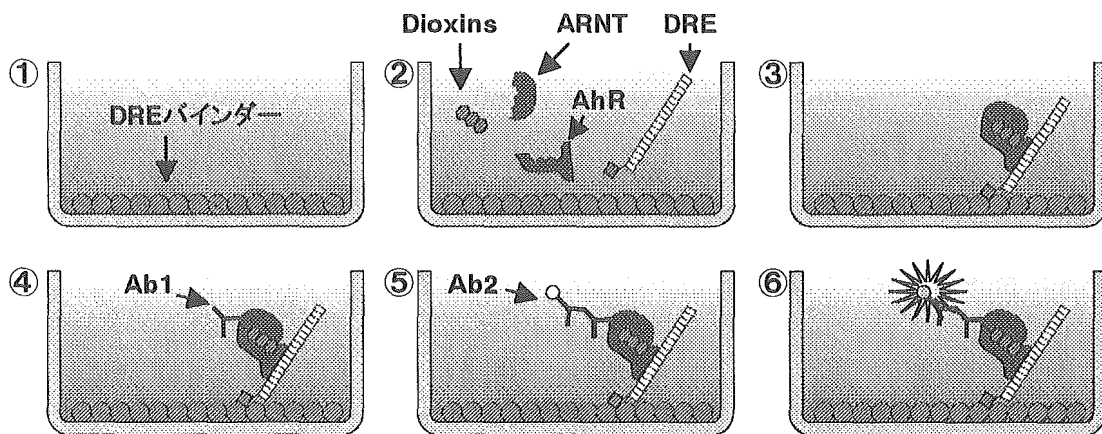


表2 Ah免疫アッセイとHRGC/HRMS分析のダイオキシン類分析の比較

Samples	pg TEQ/g on fresh weight basis		
	Ah immunoassay <sup>1)</sup>	HRGC/HRMS	
		PCDD/Fs + non-ortho PCBs	PCDD/Fs + non/mono-ortho PCBs
1 カツオ	0.30	0.27	0.31
2 "	1.3	0.39	0.43
3 サバ	4.2	1.6	1.8
4 "	0 <sup>2)</sup>	0.25	0.28
5 サーモン	5.3	2.2	2.8
6 "	0.60	0.85	1.1
7 タラ	1.2	1.4	2.4
8 "	1.8	1.8	3.1
9 ブリ	11	3.9	4.5
10 "	11	4.9	5.8
11 マグロ	0.70	0	<0.01
12 "	6.5	3.2	3.7
13 "	4.3	3.4	3.9

1)操作ブランク値(5.1 pg TEQ/g)を引いた測定値を示す。

2)操作ブランク値を引いた結果、負の値(-0.40)が得られたため0として表した。



- ①DREバインダーが固相化されたマイクロプレートを準備する。
- ②検体あるいは標準液(2378-TCDD)と、モルモットのサイトソル(AhRを含む)、ARNT及びDREの混合物を加える。

↓ 2時間インキュベート

- ③DioxinsとAhRが結合後、ARNTと複合物を形成し、固相化されたDREに結合する。

↓

- ④1次抗体(anti-ARNT)を加え、反応させる。

↓ 1時間インキュベート

- ⑤アルカリフォスファターゼ標識した2次抗体を加え、反応させる。

↓ 1時間インキュベート

- ⑥発色試薬を添加後、吸光度(405 nm)を測定する。

図1 Ah免疫アッセイ原理

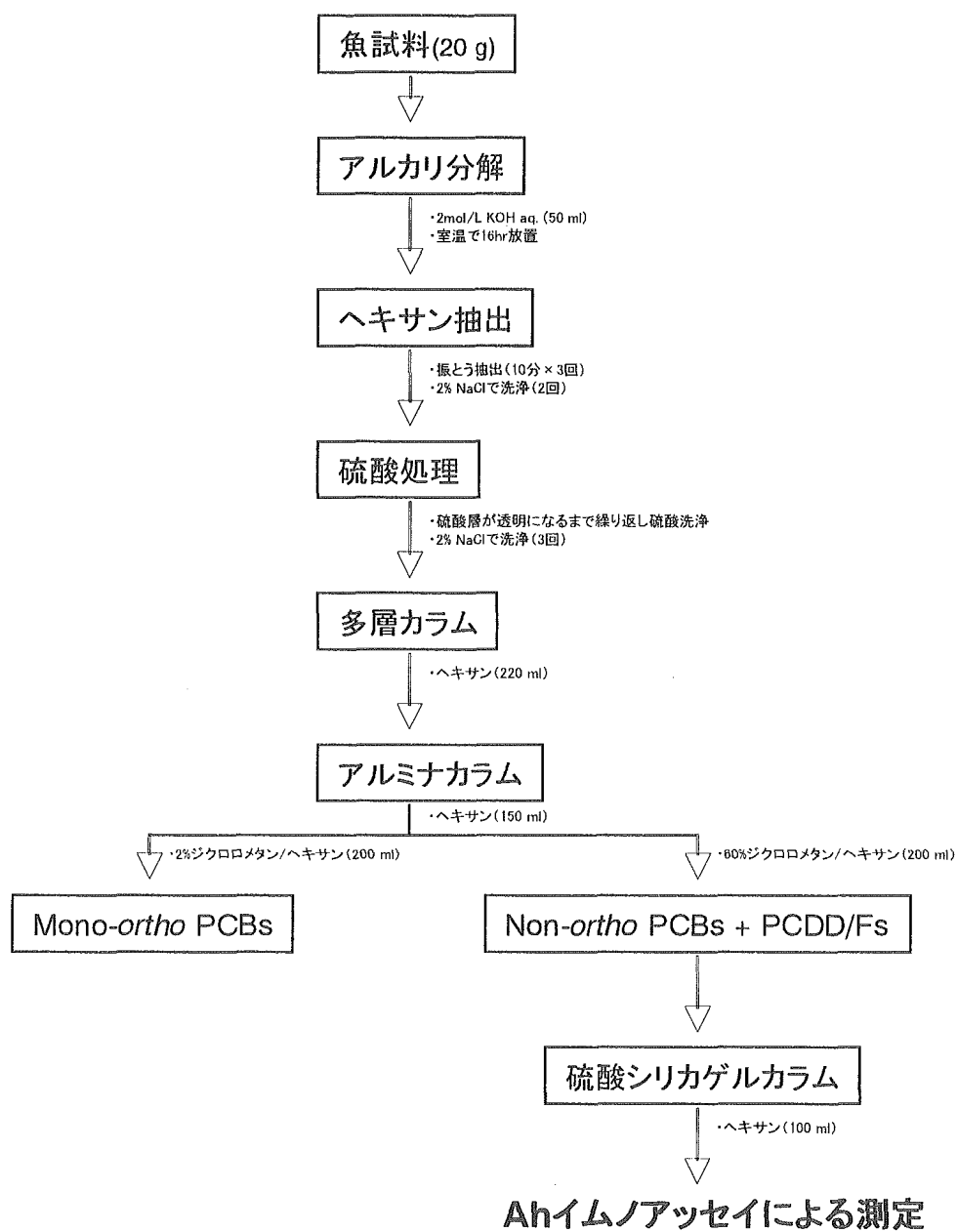
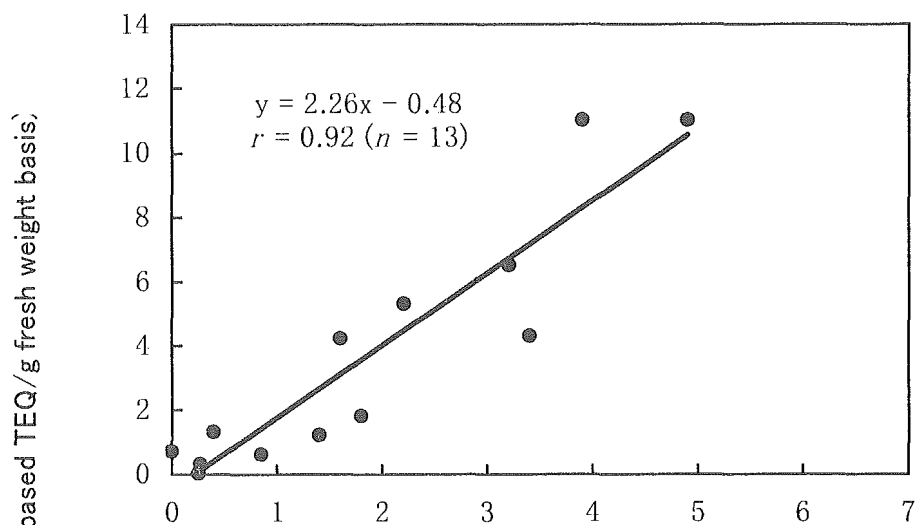


図2 前処理方法の概略

(a) PCDD/Fs + non-ortho PCBs



(b) PCDD/Fs + non/mono-ortho PCBs

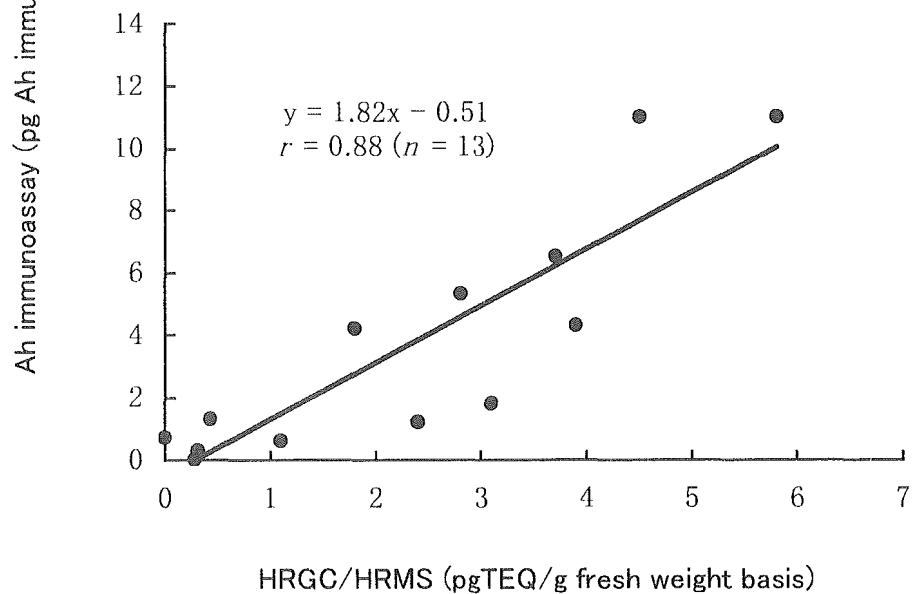


図3 AhイムノアッセイとHRGC/HRMS分析による市販魚中ダイオキシン類測定値の相関