

の高い2,3,7,8-位置換異性体の検出レベルは低いことから、PBDDs/DFs 自体が母乳の毒性やそのリスク評価に与える影響は比較的低いものと推察した。

表2 経産婦と初産婦の違いによる母乳試料中のPBDDs/DFs実測濃度

Pg/g fat base	経産婦					初産婦			
	a (n=4)	b (n=4)	c (n=4)	d (n=4)	e (n=4)	A (n=4)	B (n=4)	C (n=4)	D (n=4)
2378 TeBDF	1.4	2.3	1.7	1.6	1.6	2.0	2.2	1.5	1.3
others	0.97	0.80	0.91	0.63	0.65	1.7	ND	0.97	1.8
TeBDFs	2.3	3.1	2.6	2.1	2.2	3.6	2.2	2.4	3.1
2378 TeBDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
others	44	39	24	21	17	160	150	31	390
TeBDDs	44	39	24	21	17	160	150	31	390
12378 PeBDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23478 PeBDF	ND	2.0	ND	ND	ND	0.69	ND	ND	ND
others	4.4	3.5	ND	ND	8.4	7.8	ND	11	3.8
PeBDFs	4.4	5.5	ND	ND	8.4	8.5	ND	11	3.8
12378 PeBDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
others	9.0	6.1	8.7	2.5	4.9	87	100	8.8	100
PeBDDs	9.0	6.1	8.7	2.5	4.9	87	100	8.8	100
123478 HxBDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
others	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
HxBDFs	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
123478 HxBDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
123678 HxBDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
123789 HxBDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
others	ND	ND	ND	ND	ND	0.89	ND	ND	ND
HxBDDs	ND	ND	ND	ND	ND	0.89	ND	ND	ND
Total	60	54	85	25	32	260	250	53	500

表3 経産婦と初産婦の違いによる母乳試料中のPXDDs/DFsの実測濃度

Pg/g fat base	経産婦					初産婦			
	a (n=4)	b (n=4)	c (n=4)	d (n=4)	e (n=4)	A (n=4)	B (n=4)	C (n=4)	D (n=4)
3 Br-278 Cl DF	ND	ND	ND	ND	0.80	5.4	ND	ND	ND
others	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TeXDFs	ND	ND	ND	ND	ND	5.4	ND	ND	ND
2 Br-378 Cl DD	0.41	0.50	ND	0.98	0.89	ND	ND	0.71	0.34
23 Br-78 Cl DD	2.2	2.2	1.6	ND	0.94	ND	2.5	3.7	2.3
others	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TeXDDs	2.6	2.7	1.6	0.98	1.8	ND	2.5	4.4	2.6
1 Br-2378 Cl DF	ND	ND	ND	ND	ND	1.9	ND	ND	ND
others	ND	0.61	0.11	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PeXDFs	ND	0.61	0.11	ND	ND	1.9	ND	ND	ND
1 Br-2378 Cl DD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
others	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PeXDDs	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2 Br-36789 Cl DD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
others	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
HxXDDs	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1 Br-236789 Cl DD	ND	ND	ND	ND	ND	5.0	ND	ND	ND
others	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
HxXDDs	ND	ND	ND	ND	ND	5.0	ND	ND	ND
1 Br-2346789 Cl DD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
others	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OXDDs	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Total	2.6	3.2	1.7	0.98	2.6	12	2.5	4.6	2.6

表3は同様に、両試料中に検出されたPXDDs/DFs 異性体についてまとめたものである。その結果、

母乳中に検出される2,3,7,8-位置換異性体の占める割合が相対的に高いことが明らかとなった。検出された主要な異性体は、3-Br-2,7,8-Cl-DF、2-Br-3,7,8-Cl-DD及び2,3-Br-7,8-Cl-DDの4ハロゲン置換体のダイオキシン類であることが観察された。臭素・塩素化ダイオキシン類の理論的な異性体数は、PXDDsで1550種、PXDFsで3050種と言われており、その中、2,3,7,8-位置換PXDDsは337種、2,3,7,8-位置換PXDFsは647種の計984種が想定されていることから⁹⁾、今後、母乳の毒性影響等を評価する場合には、これら臭素・塩素化ダイオキシン類の詳細な検討が極めて重要になると考察される。

(5) 両母乳試料中に観察されたPXDDs/DFs及びPBDDs/DFsの異性体存在比の比較 (図6)

図6は、上記の母乳試料中の2,3,7,8-位置換異性体PXDDs/DFs及びPBDDs/DFs実測総濃度に対する各異性体の平均存在比を比較したものである。その結果、PXDDs/DFsに関しては、経産婦及び初産婦共に、2,3-Br-7,8-Cl-DDが総濃度の約60%を占めており、また共通の異性体として2-Br-3,7,8-Cl-DDと3-Br-2,7,8-Cl-DFが認められた。初産婦においては、それ以外に1-Br-2,3,6,7,8,9-Cl-DD(14%)と1-Br-2,3,7,8-Cl-DF(3%)が観察されており非常に興味深い。

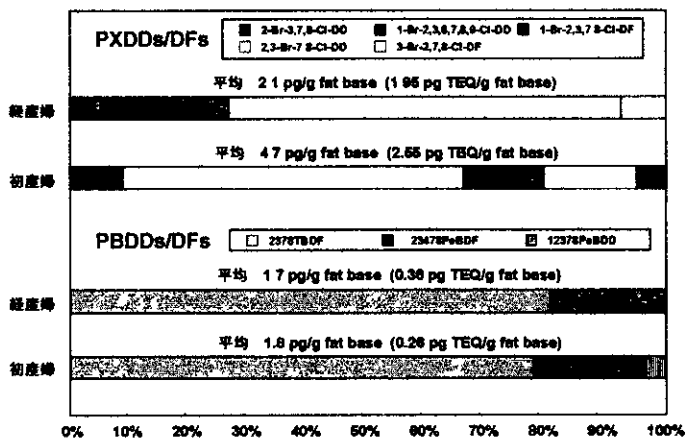


図6 両母乳試料中のPXDDs/DFs及びPBDDs/DFs実測濃度の異性体比の比較

一方、PBDDs/DFsに関しては、経産婦及び初産婦共に、2,3,7,8-TBDFだけで総濃度の約80%を占めていた。

(6) 初産婦と経産婦の授乳によって乳児に移行するPCDDs/DFs、PXDDs/DFs及びPBDDs/DFsの生体負荷量の比較 (表4)

表4は、上記母乳試料を乳児に授乳した時の、生体負荷量を試算した結果を示している。その結果、生体負荷量に対する寄与率は、PCDDs/DFs>PXDDs/DFs>PBDDs/DFsの順であった。とりわけ、PXDDs/DFsの平均寄与率が経産婦では17.9%、初産婦では15.8%であり、予想以上に高い寄与率を示していた。

一方、PBDDs/DFsの寄与率は数%程度であり、乳児へのリスク評価を考慮するには無視できるレベルにあるものと推察された。

以上、母乳中の臭素系難燃剤PBDEs並びに3種のダイオキシン類PCDDs/DFs、PXDDs/DFs及びPBDDs/DFsの汚染実態について検討を行った。注目された結果としては、やはり、母乳中のダイオキシン類による新生児、乳児への毒性影響を考慮する上で、PXDDs/DFsの関与が無視できないレベルで検出することが明らかとなった。それ故に、今後はPXDDs/DFsの発生源並びに汚染経路に関する検討が急務であることが考察された。

表4 初産婦及び経産婦の授乳によって乳児へ移行するPCDDs/DFs、PXDDs/DFs、PBDDs/DFsの生体負荷量の比較 (pg TEQ/kg/day)

	経産婦 (pg-TEQ/kg/day)					平均値	初産婦 (pg-TEQ/kg/day)					平均値
	a	b	c	d	e		A	B	C	D		
PCDDs/DFs	45.6	44.4	45.9	60.6	22.6	43.8	69.8	47.9	70.0	74.4	65.5	
寄与率(%)	76.8	70.4	85.0	89.4	66.7	76.8	92.7	78.9	77.4	82.0	82.7	
PXDDs/DFs	13.1	12.9	7.26	6.21	10.4	9.97	3.04	11.8	19.7	15.5	12.5	
寄与率(%)	22.1	20.4	13.5	9.17	30.7	17.9	4.07	19.4	21.8	17.1	15.8	
PBDDs/DFs	0.68	5.84	0.79	0.96	0.85	1.82	2.41	1.03	0.66	0.77	1.22	
寄与率(%)	1.10	9.20	1.50	1.43	2.80	3.30	3.23	1.70	0.80	0.90	1.60	
総計	59.4	63.1	54.0	67.7	33.9	55.6	75.3	60.7	90.4	90.7	79.2	

* 乳児は1日 体重1kgあたり150mLの母乳を飲むとし、また 母乳中の脂肪は約3%として試算した。
 * PXDDs/DFs及びPBDDs/DFsの毒性等価係数は PCDDs/DFsと同じ異性体ごとの毒性が等しいと仮定し、WHO TEF (1986) を用いて評価した。

【引用文献】

- 1) 化学工業日報新聞記事 難燃材需要量統計データ (1986-2003)
- 2) Noren, K , Meironyte, D Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20-30 years, Chemosphere, 40, pp 1111-1123 (2000)
- 3) Betts, K S Rapidly rising PBDE levels in North America Environmental Science and Technology, 36, 50A- 52A(2002)
- 4) Buser, H R Polybrominated dibenzofurans and dibenzo-p-dioxins Thermal reaction products of Polybrominated diphenyl ether flame retardants Environ Sci Technol , 20, pp 404-408 (1986)
- 5) Watanabe, I , Tatsukawa, R Formation of brominated dibenzofurans from the photolysis of flame retardant Decabromobiphenyl ether in hexane solution by UV and sun light, Bull Environ Contam Toxicol , 39, pp 953-959 (1987)
- 6) Thoma, H , Rist, S , Hauschulz, G and Hutzinger, O Polybrominated dibenzodioxins and - furans from the pyrolysis of some flame retardants Chemosphere 15, pp 649-652 (1986)
- 7) Eriksson, J , Jakobsson, F , Marsh, G , Bergman, A Photo decomposition of brominate diphenylethers in methanol/water, Abstracts of BFR 2001 (Stockholm) pp 203-206 (2001)
- 8) Ohta, S , Nishimura, H , Nakao, T , Aozasa, O , Okumura, T and Miyata, H Characterization of the photolysis of decabromodiphenyl ether and the levels of PBDEs as its photoproducts in atmospheric air of Japan, Organohalogen Compounds 52, pp 321-324 (2001)
- 9) WHO Polybrominated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans, Environmental Health Criteria, p 205 (1998)
- 10) 厚生省 平成 12 年 母乳中のダイオキシン類測定暫定マニュアル (平成 12 年 12 月 22 日)
- 11) Van den Berg, M , Birnbaum, L , Bosveld, A T C , Brunstrom, B , Cook, P , Freeley, M , Giesy, J P , Liem et al Environment Health Perspectives 106, pp775-792 (1998)
- 12) Ohta, S , Nakao, T , Nishimura, H , Aozasa, O , Okumura, T and Miyata, H Contamination levels of PBDEs, TBBPA, PCDDs/DFs, PBDDs/DFs and PXDDs/DFs in the environment of Japan, Organohalogen Compounds 57, pp 57-60 (2002)
- 13) 太田壮一、奥村尚志、西村肇、青笹治、中尾晃幸、宮田秀明 4種の臭素系難燃剤の熱及び光分解特性に関する研究、第12回環境化学討論会講演要旨集、pp 102-103 (2003)

厚生労働科学研究費補助金研究（食品安全確保研究事業）

「ダイオキシン類等の化学物質の食品及び生体試料検査における
信頼性確保と生体曝露モニタリング法の確立に関する研究」

分担研究報告書

食品中ダイオキシン類分析の信頼性確保に関わる調査研究

分担研究者 米谷民雄

平成 15 年度 厚生労働科学研究費補助金（食品安全確保研究事業）

ダイオキシン類等の化学物質の食品及び生体試料検査における信頼性確保と
生体曝露モニタリング法の確立に関する研究

分担研究報告書

食品中ダイオキシン類分析の信頼性確保に関わる調査研究

主任研究者 柳澤 健一郎 (財)食品薬品安全センター 理事長
分担研究者 米谷 民雄 国立医薬品食品衛生研究所 部長
協力研究者 松田 りえ子 国立医薬品食品衛生研究所 室長

研究要旨

ダイオキシン類分析の内部精度管理方法を検討する目的で、昨年度の技能試験に使用して均一性が確認された、魚（ボラ）の筋肉部分を凍結乾燥して作製した試料を用いて、試験者 2 名により、4 週間隔で 10 回（9 ヶ月間）の内部精度管理を行った。その結果、使用した試料は安定であり、内部精度管理の目的にかなうことが示された。さらに、内部精度管理結果を詳細に解析することにより、試験者間の手技の差を検出することができた。また、 z -スコアの変動パターンを解析することにより、mono-ortho Co-PCB において系統的な変動が認められ、この変動が分析全体の精度(RSD)に影響を与えていることが明らかになった。このように、適切な試料を用いて内部精度管理を実施することにより、試験者間の手技の差あるいは大きな変動要因を発見する事が可能となり、分析の信頼性確保に非常に有効な手段であることが示された。

A. 研究目的

健康への危害が問題となっているダイオキシン類のヒトへの曝露の主要経路は食品であると考えられており、ダイオキシン曝露の影響を精密に評価するためには、食品に含まれるダイオキシン類の量の分布を知り、食品からのダイオキシン摂取による健康リスクを評価しなければならない。

正しいリスク評価のためには、食品中のダイオキシンの正確な分析値を得ることが重要である。しかし、食品からのダイオキシン類摂取量の総摂取量に対する割合は高いとはいえ、個々の食品におけるダイオキシン類の濃度は、環境試料と比較して非常に低い。また、食品のように多くの成分からなる複雑

なマトリクスからダイオキシンを抽出し、分析機器にかけるためにクリーンアップするためには、何工程にもわたる前処理を行わなければならない。このため、ダイオキシンの分析値は、食品のマトリクスによる妨害に加えて、試験室の空気や試薬の汚染といった、分析環境からのコンタミネーションの影響を受ける可能性が高い。従って、食品中のダイオキシン類の分析結果には大きな誤差が伴う可能性があり、このような分析値に基づいたリスク評価は、誤った結論に陥る危険もある。

分析値の品質あるいは正当性を保証するために、分析の精度管理あるいは品質管理を取り入れなければならない。品質の保証され

た分析値を得るために、厚生省、環境庁等が作成したダイオキシン類分析に関連したガイドライン・マニュアル中には、分析法だけではなく、測定データの品質管理に関する項目が設定されている。品質管理項目としては、分析法のバリデーション、分析時の信頼性の確認、データの管理・評価、内部精度管理の実施、外部精度管理に参加することが規定されている。内部精度管理は、分析者が一定の試料を定期的に分析することにより、分析値の変動を検出する方法である。また、外部精度管理は技能試験ともいわれ、多数の試験機関が共通試料を分析した結果を相互比較する事によって、個々の分析機関の能力を客観的に評価する手法である。

本研究では、ダイオキシン類分析の技能試験方法を検討する目的で、平成15年11月に9機関を対象とした外部精度管理を実施した。試料としては、平成14年度に作製した茶試料を使用した。

さらに、分析値の品質保証の重要な要素である、内部精度管理についても、平成14年度に技能試験に使用して均一性が保証された試料を用いて実施し、実施方法及び解析方法について検討した。

B. 研究方法

1. 技能試験 8カ所のダイオキシン分析機関に試料を配布し、報告された分析結果の比較及び統計解析を実施する。

試料 市販の茶を粉砕し充分混合して試料とした。

2. 内部精度管理 試験者2名にて、均一化した試料1検体ずつを4週間毎に10回分析した。実施期間は3月から12月であった。試料 ポラ可食部分約14kgを細切し、凍結した。これを凍結乾燥機を用いて乾燥し、フードミルにより均一化した。可食部の水分含量は75.5%であった。6試料を用いて均一性を確認した。

C. 研究結果

技能試験

8カ所のダイオキシン試験機関において分析を行っている。

内部精度管理

試験者AおよびBによる内部精度管理結果をTable1と2に示す。また、PCDD及びPCDFについての各異性体濃度とRSDの関係をFig.1に、Co-PCBについての各異性体濃度とRSDの関係をFig.2に示した。Fig.2は濃度の範囲が広いいため、横軸を対数表示とした。図から、Co-PCB分析において、試験者Bの方が、全般的にRSDが大きい傾向がみえる。

平成14年度に同じ試料を用いて実施した外部精度管理では、TEQの試験室間のRSDは7.1%であった。今回の内部精度管理から求めた日間のRSDは、試験者Aでは5.8%、試験者Bでは7.4%であった。

試験者それぞれの平均値と標準偏差を用いて、次式により各回のzスコアを計算した結果を、Fig.3-7に示す。

$$z\text{-スコア} = \frac{(\text{分析値} - \text{平均値})}{\text{標準偏差}}$$

D. 考察

試験者間の差

昨年度の技能試験の結果から得られた、TEQは7.32pg/gであった。試験者AのTEQの平均は8.04pg/g、Bは7.81pg/gと両者ともやや高い値であった。

2名の試験者の結果に差があるかを検討した。まず、各異性体の濃度の分散についてF検定を行った。その結果、1,2,3,7,8-PeCDFと2,3,4,6,7,8-HxCDFにおいて、試験者Bの分散が有意に大きい結果となった。他の異性体については有意差はなかった。さらに、各異性体濃度の平均値についても検定を行っ

た結果、1,2,3,4,7,8-HxCDF と 2,3,4,6,7,8-HxCDF、については、試験者Bが有意に高い値となり、他の異性体については有意差は見られなかった。

個々の異性体については、平均値、ばらつき共に有意の差は観測されなかったが、Fig. 2からは、試験者BのRSDが全体的に試験者Aよりも高い傾向がみられたので、全異性体濃度の平均値及びRSDの有意差を、対になった符号検定で検定した。結果をTable 3と4に示す。PCDD及びPCDFでは、濃度が観測された異性体16種類中、試験者Aが高い平均値を出した数は5、高いRSDとなった異性体数は7であった。二人に差がないとすれば、このような回数になる数は発現確率0.5の二項分布から計算できる。表中に示したように、いずれの確率も0.105、0.402と0.05よりも高く、危険率5%で両試験者に差は認められなかった。一方、Co-PCBでは12異性体中試験者Aの方が小さい値を出したのは1回のみであった。この確率は0.003であり、0.01よりも小さいので、99%の確率で平均値は試験者Aの方が大きい。RSDについては、試験者Aが小さい値を出したのは2回であり、この確率は0.019ということから、試験者BのRSDが有意に大きい結果となった。

z-スコアによる精度管理

Figure 3-7に10回の各異性体濃度及びTEQをz-スコア化して示した。スコアが徐々に上昇あるいは下降するような、系統的な変化は見られず、今回用いた凍結乾燥魚試料が、内部精度管理試料として適用可能であることが示された。

PCDD、PCDF、non-ortho Co-PCB類では、各異性体がそれぞれ異なる動きを示し、試験者間でも同じ傾向があらわれることはなかった。しかし、mono-ortho Co-PCBのz-スコアはいずれの試験者においても全ての異性体がほぼ同じ値となり、系統的な変動が現

れた。また、試験者二人の間でも、3回目と4回目を除いた回で、類似したパターンが現れている。

このように同じ変動パターンが現れる原因としては、検量線作成時と測定時でGC/MS測定のRRFが変動しているか、添加する内部標準の濃度が変動しているということが考えられる。

一般に、測定対象の濃度が高くなるとRSDが減少する。Figure 1に示したPCDD及びPCDFの濃度平均値とRSDは、この法則に従っている。しかし、mono-ortho Co-PCB類はnon-ortho Co-PCBよりも濃度が高いにも関わらず、高いRSDを示しており、この点からもmono-ortho Co-PCBには、他とは異なる変動要因が存在することが示唆され、このことも上記のGC/MSあるいは内部標準に関連した変動が存在することを指示している。このような変動の原因を特定し除去することにより、mono-ortho Co-PCB類のRSDがnon-ortho Co-PCB類と同程度またはそれ以下になると期待できる。

Figure 7には、TEQのz-スコアの変動を示した。今回用いた魚試料については、TEQとCo-PCBのみから計算したTEQの変動がほぼ一致している。魚試料については、そのTEQの大部分がCo-PCB由来であることはよく知られており、z-スコアの変動が一致することは不思議ではない。従って、GC/MS等に起因すると考えられるmono-ortho Co-PCBの変動原因を取り除けば、TEQの変動をより小さくできると考えられる。

E. 結論

昨年度、外部精度管理に使用した、凍結乾燥魚試料を用いて、内部精度管理を実施した。その結果、このように作成した試料は安定であり、内部精度管理の目的にかなうことが示された。

内部精度管理結果を詳細に解析すること

により、試験者間の手技の差があることが示された。今回の場合は特に、Co-PCB において、平均値・RSD とともに試験者間に差があることが認められた。

z スコアの変動パターンを解析することにより、mono-ortho Co-PCB において系統的な変動が認められ、この変動が分析全体の精度(RSD)に影響を与えていることが明らかとなった。

上記のように、適切な試料を用いて内部精度管理を実施することにより、試験者間の手技の差あるいは大きな変動要因を発見する事が可能であり、分析の信頼性確保に非常に有効な手段であることが示された。

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表
1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の取得状況
なし

Table 1 試験者Aの内部精度管理結果

DXNs	試験者 A (pg/g)										平均	SD	RSD%
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	7回目	8回目	9回目	10回目			
2,3,7,8-TeCDD	0.21	0.27	0.23	0.23	0.25	0.23	0.27	0.2	0.21	0.23	0.233	0.0241	10.3
1,2,3,7,8-PeCDD	0.38	0.35	0.42	0.4	0.41	0.41	0.43	0.41	0.37	0.41	0.399	0.0247	6.2
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.07	0.05	0.07	0.07	0.058	0.0092	15.9
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.13	0.12	0.14	0.09	0.14	0.12	0.13	0.13	0.12	0.13	0.125	0.0143	11.4
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.04	0.03	0.04	0.04	0.05	0.05	0.06	0.04	0.04	0.04	0.043	0.0082	19.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.13	0.14	0.17	0.13	0.17	0.14	0.11	0.1	0.14	0.12	0.135	0.0227	16.8
OCDD	0.24	0.26	0.25	0.23	0.31	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.249	0.0431	17.3
2,3,7,8-TeCDF	2	2	2.2	1.8	1.9	1.9	1.9	2	2	2	1.97	0.1059	5.4
1,2,3,7,8-PeCDF	0.2	0.18	0.21	0.18	0.2	0.19	0.2	0.2	0.17	0.19	0.192	0.0123	6.4
2,3,4,7,8-PeCDF	0.93	0.84	0.88	0.78	0.95	0.87	0.91	0.86	0.91	0.86	0.879	0.0491	5.6
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.06	0.06	0.04	0.04	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.051	0.0074	14.5
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.07	0.07	0.1	0.08	0.07	0.08	0.07	0.07	0.07	0.07	0.075	0.0097	12.9
1,2,3,7,8,9-HxCDF	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04			
2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.14	0.13	0.15	0.12	0.13	0.12	0.15	0.1	0.12	0.12	0.128	0.0155	12.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.16	0.12	0.19	0.1	0.09	0.13	0.17	0.13	0.13	0.12	0.134	0.0310	23.1
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.09	0.06	0.08	0.06	0.05	0.05	0.06	0.04	0.05	0.05	0.059	0.0152	25.8
OCDF	0.14	0.11	0.19	0.08	0.09	0.12	0.13	0.16	0.18	0.15	0.135	0.0363	26.9
co-PCB													
3,4,4',5'-TeCB(#81)	24	24	25	28	22	28	28	28	27	27	26.1	2.1833	8.4
3,3',4,4'-TeCB(#77)	180	170	180	180	180	170	180	180	180	180	178	4.2164	2.4
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	35	34	35	38	33	39	38	38	37	38	36.5	2.0683	5.7
3,3',4,4',5',5'-HxCB(#169)	1.8	1.7	1.9	1.8	1.8	1.8	1.9	1.9	1.9	1.9	1.84	0.0699	3.8
2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	290	280	280	330	230	310	310	310	280	310	293	27.91	9.5
2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	14000	13000	14000	15000	11000	15000	15000	15000	14000	15000	14100	1286.7	9.1
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	4700	4600	4800	5600	4000	5400	5300	5200	4900	5100	4960	464.76	9.4
2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	340	310	300	360	280	390	400	420	350	380	353	45.96	13.0
2,3,4,4',5',5'-HxCB(#167)	600	610	640	700	510	690	670	660	620	650	635	54.82	8.6
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	1400	1400	1400	1600	1200	1700	1600	1500	1400	1500	1470	141.81	9.6
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	330	320	320	370	270	370	370	360	340	360	341	32.13	9.4
2,3,3',4,4',5',5'-HpCB(#189)	80	79	80	94	69	86	93	87	84	85	83.7	7.27	8.7
TEQ(毒性等量)													
PCDD(WHO-TEF)	0.61	0.64	0.67	0.65	0.69	0.66	0.73	0.63	0.6	0.67	0.655	0.04	6.1
PCDF(WHO-TEF)	0.7	0.66	0.7	0.6	0.7	0.66	0.69	0.66	0.69	0.67	0.673	0.03	4.5
DXN(WHO-TEF)	1.3	1.3	1.4	1.3	1.4	1.3	1.4	1.3	1.3	1.3	1.33	0.05	3.8
Co-PCB12	6.5	6.3	6.5	7.1	5.7	7.3	7.1	7	6.7	7	6.72	0.48	7.1
DXN(WHO-TEF)+Co-PCB12	7.8	7.6	7.8	8.4	7.1	8.6	8.5	8.3	8	8.3	8.04	0.47	5.8

Table 2 試験者Bの内部精度管理結果

DXNs	(pg/g)										平均	SD	RSD%	
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	7回目	8回目	9回目	10回目				
2,3,7,8-TeCDD	0.21	0.22	0.25	0.23	0.25	0.22	0.19	0.24	0.22	0.22	0.23	0.226	0.0184	8.1
1,2,3,7,8-PeCDD	0.43	0.4	0.35	0.46	0.42	0.36	0.36	0.38	0.35	0.35	0.36	0.387	0.0386	10.0
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.07	0.07	0.05	0.05	0.07	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.07	0.06	0.0094	15.7
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.13	0.11	0.12	0.15	0.13	0.11	0.13	0.11	0.13	0.13	0.13	0.125	0.0127	10.2
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.04	0.03	0.03	0.05	0.05	0.03	0.05	<0.03	0.04	0.04	0.05	0.04111	0.0093	22.6
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.13	0.12	0.11	0.14	0.16	0.11	0.14	0.11	0.12	0.12	0.12	0.126	0.0165	13.1
OCDD	0.25	0.24	0.27	0.29	0.27	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.252	0.0408	16.2
2,3,7,8-TeCDF	1.9	1.9	1.9	2	1.9	1.8	1.8	2	1.9	2	1.9	1.9	0.0667	3.5
1,2,3,7,8-PeCDF	0.24	0.24	0.21	0.21	0.24	0.17	0.2	0.2	0.18	0.2	0.17	0.206	0.0276	13.4
2,3,4,7,8-PeCDF	0.99	0.84	0.91	0.9	0.97	0.8	0.81	0.88	0.87	0.88	0.84	0.881	0.0633	7.2
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.06	0.07	0.06	0.07	0.07	0.06	0.06	0.06	0.04	0.06	0.05	0.06	0.0094	15.7
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.08	0.08	0.11	0.08	0.09	0.07	0.07	0.09	0.08	0.08	0.06	0.081	0.0137	16.9
1,2,3,7,8,9-HxCDF	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04	<0.04			
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.19	0.19	0.15	0.16	0.2	0.16	0.14	0.14	0.12	0.14	0.12	0.157	0.0287	18.3
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.22	0.21	0.21	0.1	0.2	0.19	0.13	0.14	0.15	0.14	0.11	0.166	0.0450	27.1
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.07	0.09	0.09	0.04	0.09	0.07	0.07	0.1	0.06	0.06	0.05	0.073	0.0195	26.7
OCDF	0.17	0.2	0.15	0.09	0.18	0.15	0.13	0.14	0.14	0.14	0.1	0.145	0.0337	23.2

co-PCB

3,4,4',5'-TeCB(#81)	25	24	28	22	23	26	28	27	27	25	25.5	2.0683	8.1
3,3',4,4'-TeCB(#77)	180	180	190	180	180	170	180	180	180	170	179	5.6765	3.2
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	35	33	39	31	32	38	37	37	37	36	35.5	2.6771	7.5
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	18	17	19	18	18	18	18	19	18	17	18	0.0667	3.7
2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	280	260	340	210	230	320	300	280	270	260	275	38.94	14.2
2,3,4,4',5'-PeCB(#118)	13000	13000	16000	11000	11000	16000	15000	14000	14000	13000	13600	1776.4	13.1
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	4800	4500	5700	3700	3900	5500	5200	4900	4800	4700	4770	630.78	13.2
2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	310	300	370	260	260	390	410	340	360	350	335	51.48	15.4
2,3,4,4',5,5'-HxCB(#167)	620	570	720	480	500	670	660	630	620	600	607	74.09	12.2
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	1400	1300	1700	1100	1100	1600	1500	1500	1400	1400	1400	194.37	13.9
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	330	310	380	250	270	370	360	340	340	330	328	41.58	12.7
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	84	75	90	65	67	88	87	86	78	80	80	8.74	10.9

TEQ(毒性等量)

PCDD(WHO-TEF)	0.67	0.64	0.62	0.72	0.7	0.6	0.58	0.64	0.59	0.62	0.638	0.05	7.8
PCDF(WHO-TEF)	0.73	0.66	0.69	0.69	0.73	0.62	0.62	0.68	0.66	0.64	0.672	0.04	6.0
DXN(WHO-TEF)	1.4	1.3	1.3	1.4	1.4	1.2	1.2	1.3	1.3	1.3	1.31	0.07	5.3
Co-PCB12	6.4	6.1	7.4	5.4	5.6	7.2	6.9	6.8	6.7	6.5	6.5	0.65	10.0
DXN(WHO-TEF)+Co-PCB12	7.8	7.4	8.7	6.9	7	8.4	8.1	8.1	8	7.7	7.81	0.58	7.4

Table 3 PCDD及びPCDF結果の符号検定

	平均値			RSD		
	試験者A	試験者B	A-B	試験者A	試験者B	A-B
2,3,7,8-TeCDD	0.233	0.226	+	10.3	8.1	+
1,2,3,7,8-PeCDD	0.399	0.387	+	6.2	10	-
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.058	0.06	-	15.9	15.7	+
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.125	0.125	-	11.4	10.2	+
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.043	0.041	+	19.1	22.6	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.135	0.126	+	16.8	13.1	+
OCDD	0.249	0.252	-	17.3	16.2	+
2,3,7,8-TeCDF	1.97	1.90	+	5.4	3.5	+
1,2,3,7,8-PeCDF	0.192	0.206	-	6.4	13.4	-
2,3,4,7,8-PeCDF	0.879	0.881	-	5.6	7.2	-
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.051	0.06	-	14.5	15.7	-
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.075	0.081	-	12.9	16.9	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF						
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.128	0.157	-	12.1	18.3	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.134	0.166	-	23.1	27.1	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.059	0.073	-	25.8	26.7	-
OCDF	0.135	0.145	-	26.9	23.2	+
二項分布確率			0.105			0.402

Table 4 Co-PCB結果の符号検定

	平均値			RSD		
	試験者A	試験者B	A-B	試験者A	試験者B	A-B
3,4,4',5-TeCB(#81)	26.1	25.5	+	8.4	8.1	+
3,3',4,4'-TeCB(#77)	17.8	17.9	-	2.4	3.2	-
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	36.5	35.5	+	5.7	7.5	-
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	1.84	1.80	+	3.8	3.7	+
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	29.3	27.5	+	9.5	14.2	-
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	14100	13600	+	9.1	13.1	-
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	4960	4770	+	9.4	13.2	-
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	35.3	33.5	+	1.3	15.4	-
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	6.35	6.07	+	8.6	12.2	-
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	14.70	14.00	+	9.6	13.9	-
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	3.41	3.28	+	9.4	12.7	-
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	8.37	8.00	+	8.7	10.9	-
二項分布確率			0.003			0.019

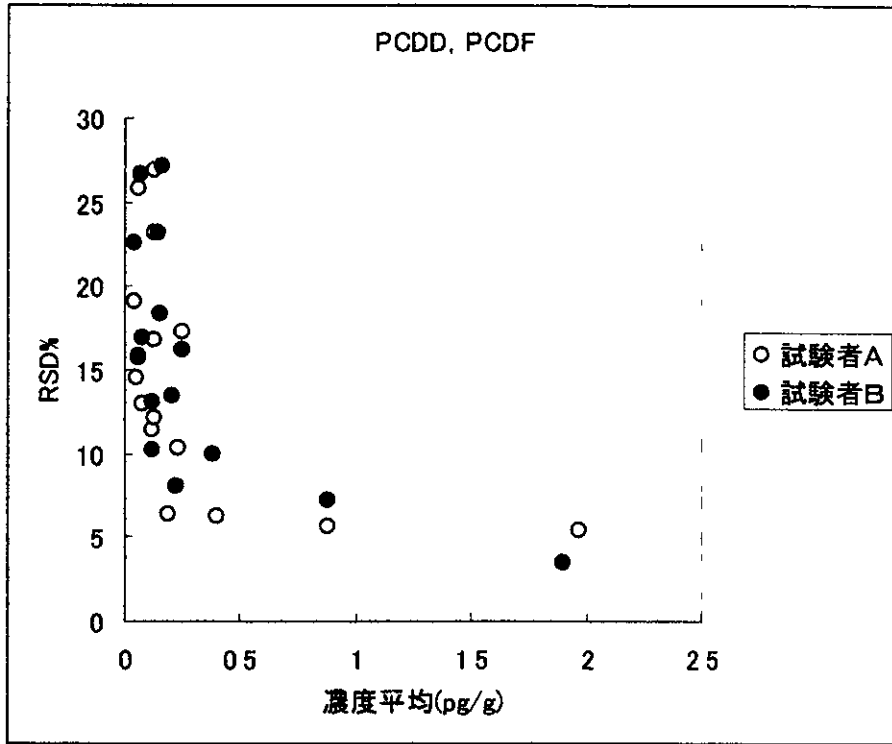


Figure 1 PCDD 及び PCDF の濃度平均値と RSD

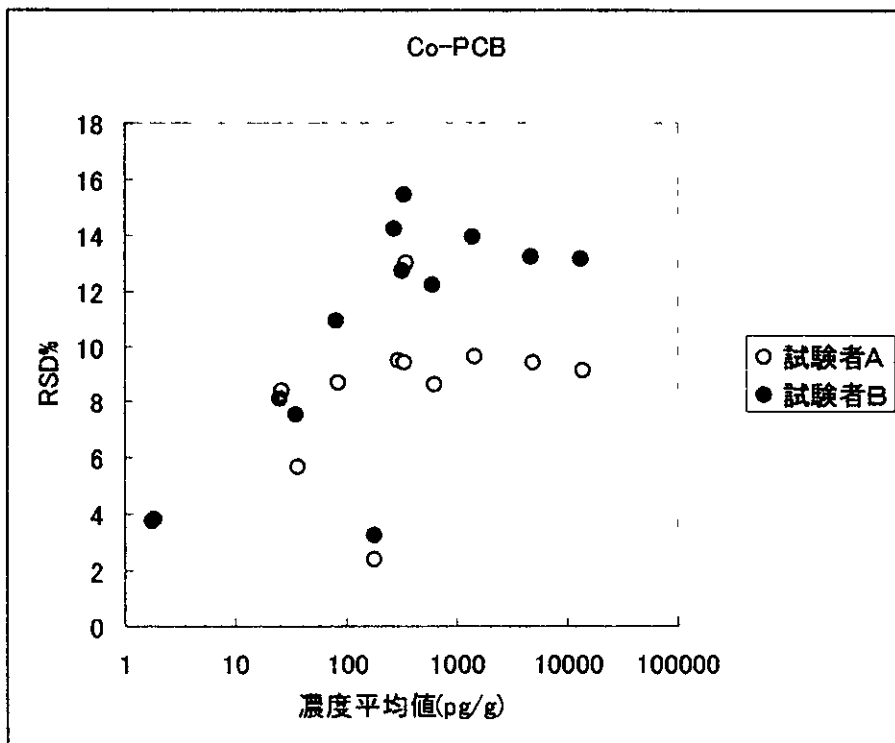


Figure 2 Co-PCB の濃度平均値と RSD

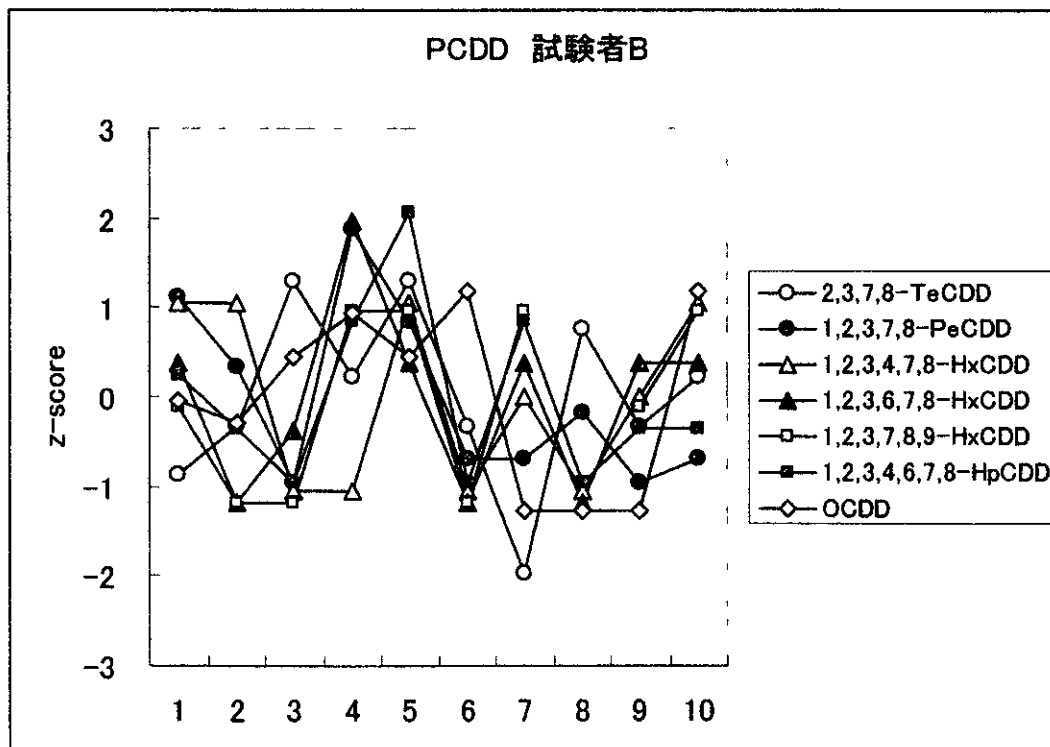
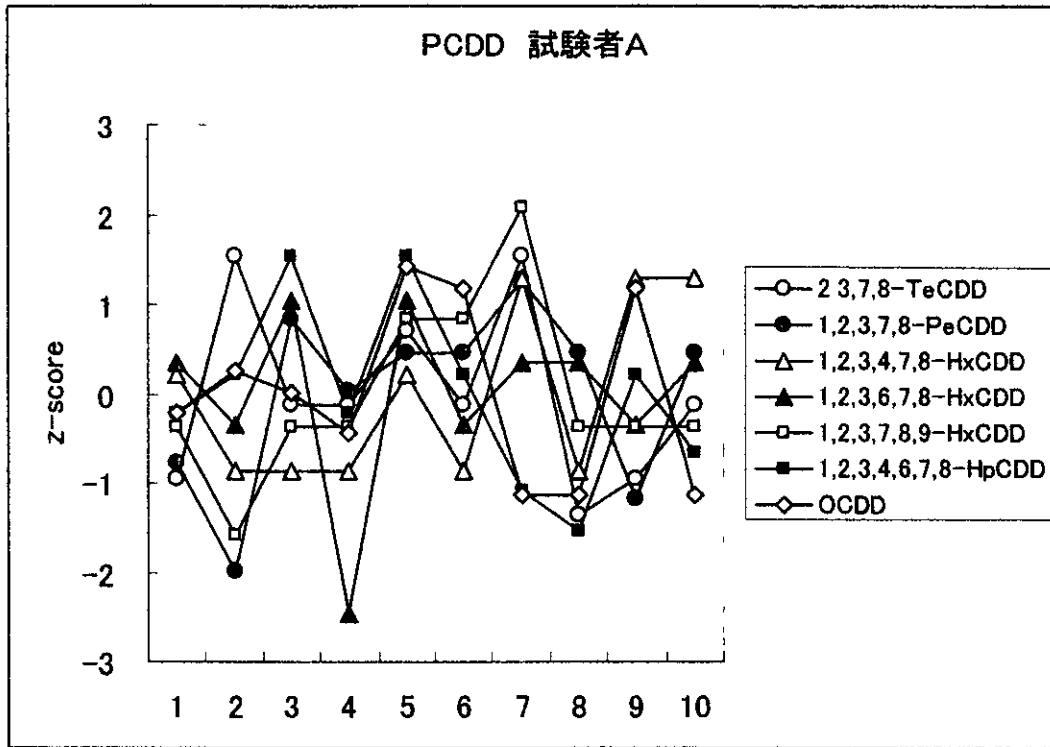


Figure 3 PCDD の z-スコア

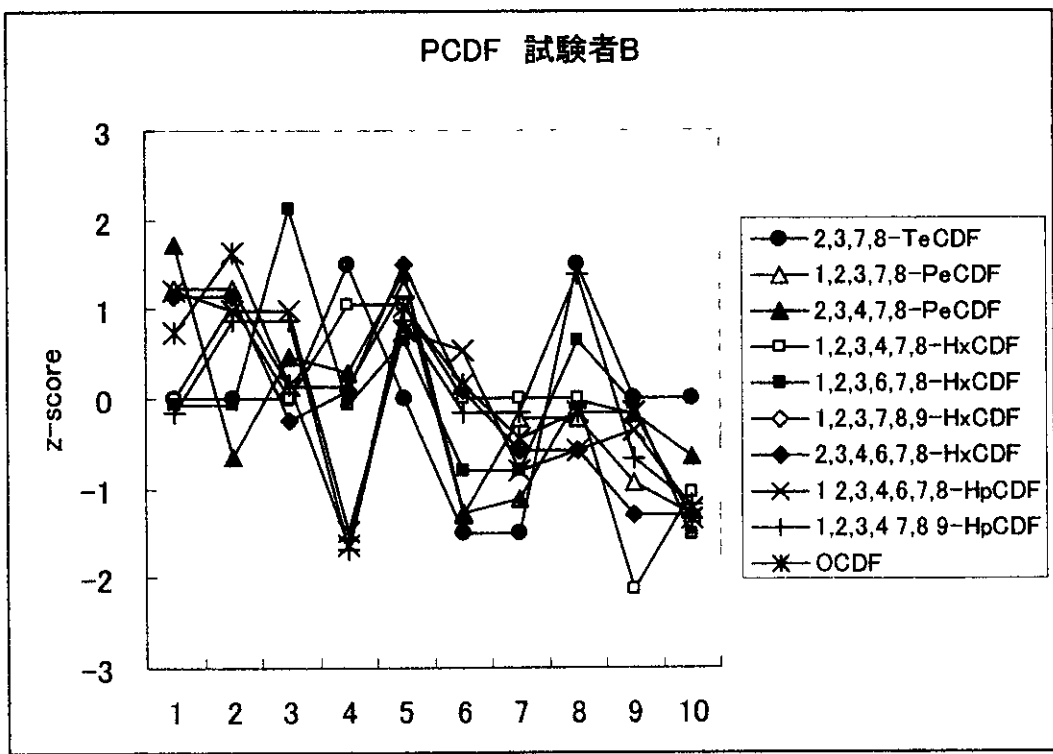
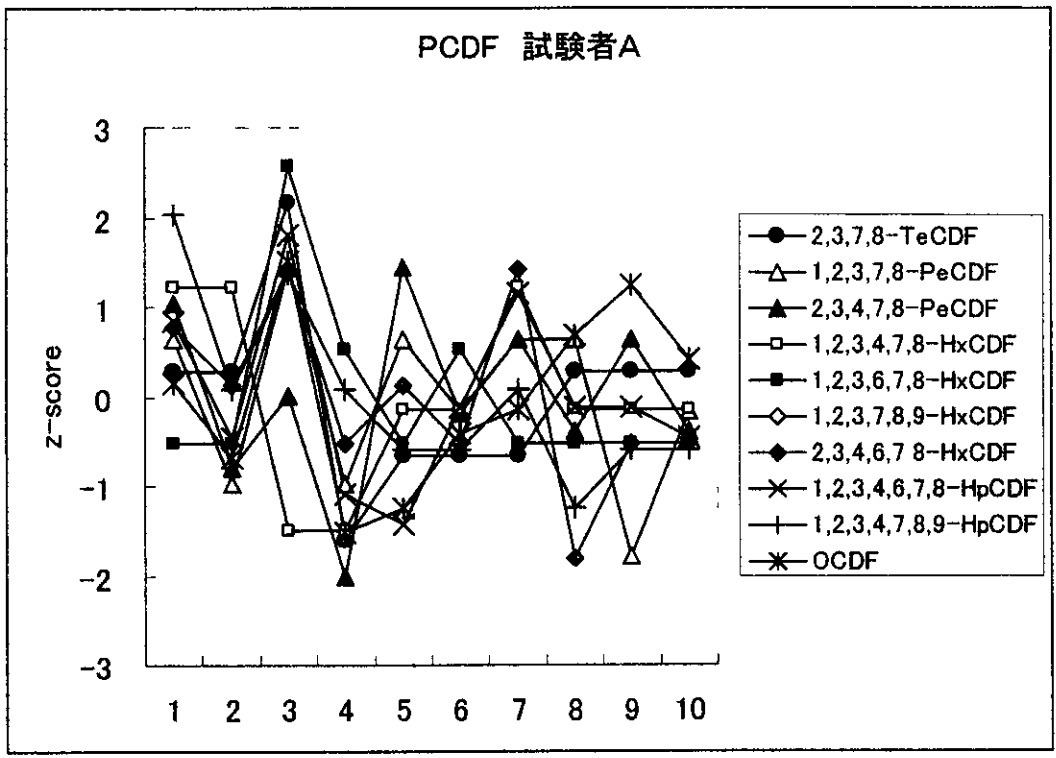


Figure 4 PCDF の z-スコア

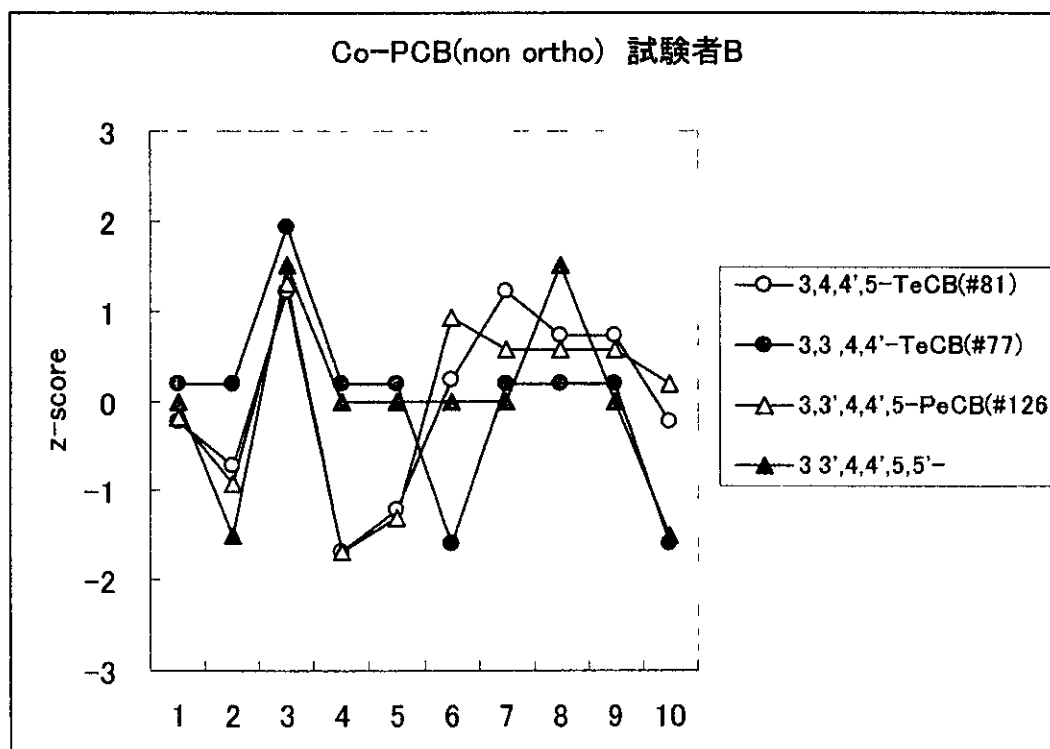
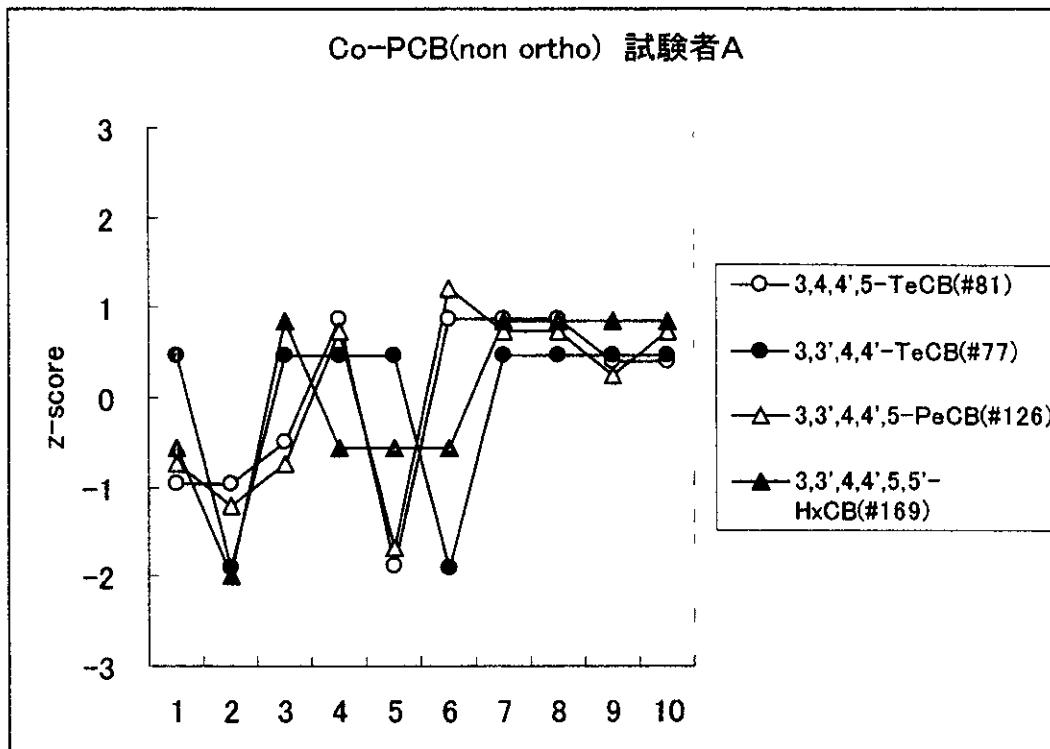


Figure 5 Co-PCB (non ortho) の z-スコア

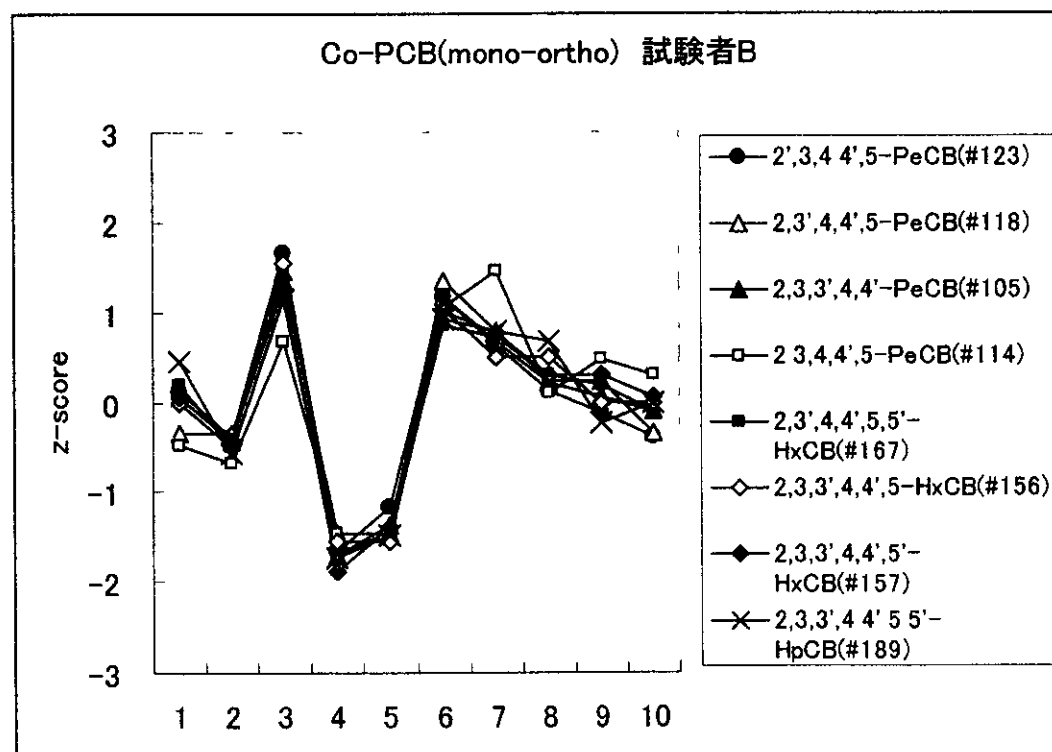
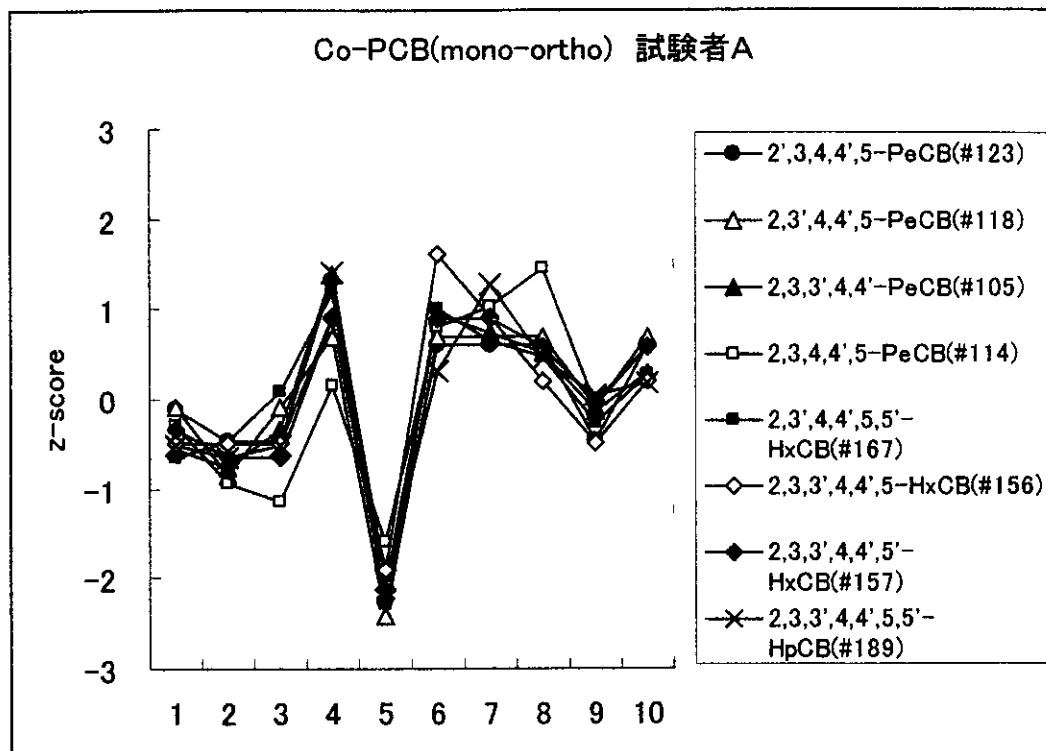


Figure 6 Co-PCB (mono ortho) の z-スコア

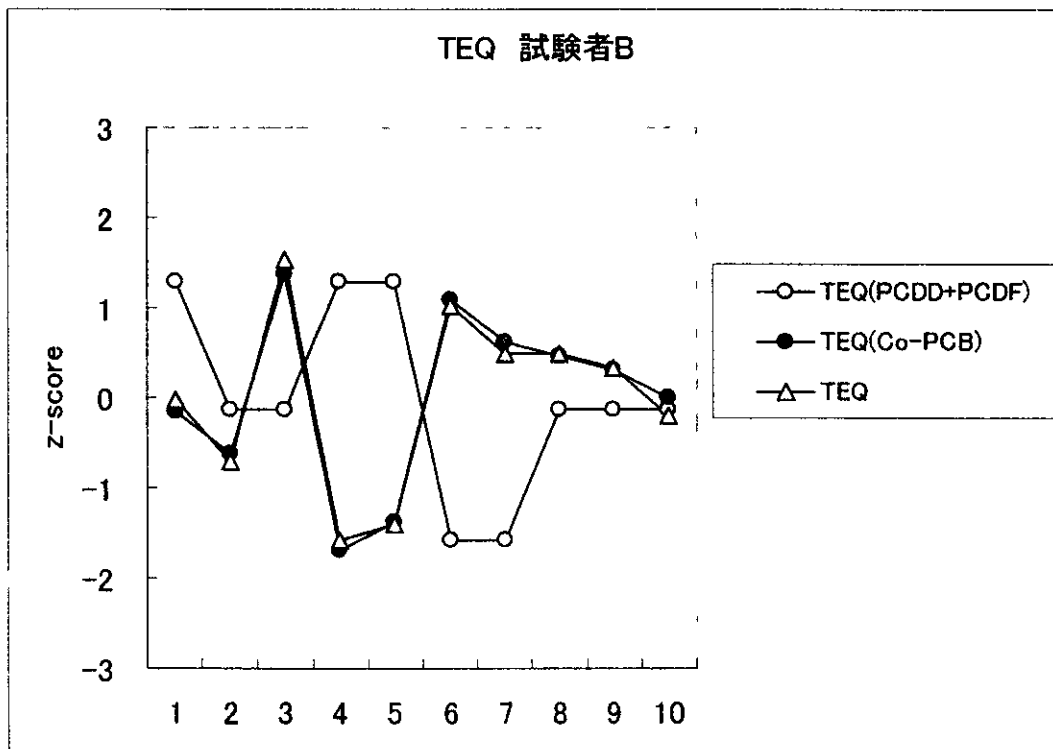
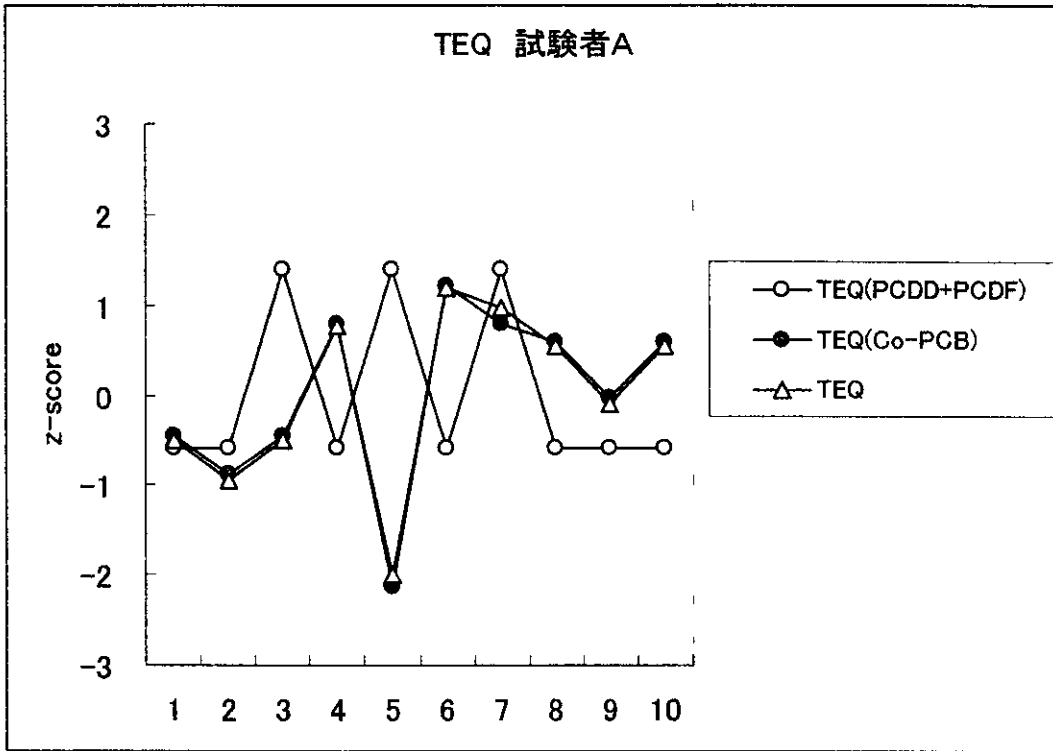


Figure 7 TEQ の z-スコア

厚生労働科学研究費補助金研究（食品安全確保研究事業）

「ダイオキシン類等の化学物質の食品及び生体試料検査における
信頼性確保と生体曝露モニタリング法の確立に関する研究」

分担研究報告書

生体試料中ダイオキシンの簡易モニタリング法の実用性評価および
臭素化ダイオキシン ELISA 確立に関する研究／食品衛生検査精度管理調査
における適正調査試料作製と質向上に関する調査研究

分担研究者 松木容彦

平成 15 年度 厚生労働科学研究費補助金（食品安全確保研究事業）

ダイオキシン類等の化学物質の食品及び生体試料検査における信頼性確保と
生体曝露モニタリング法の確立に関する研究

分担研究報告書

生体試料中ダイオキシンの簡易モニタリング法の実用性評価および
臭素化ダイオキシン ELISA 確立に関する研究／食品衛生検査精度管理調査における
適正調査試料作製と質向上に関する調査研究（その 1）
ーダイオキシン ELISA キットのハリデーション試験ー

主任研究者	柳澤 健一郎	(財)食品薬品安全センター 理事長
分担研究者	松木 容彦	(財)食品薬品安全センター秦野研究所 副所長
協力研究者	奥山 光伸	(財)食品薬品安全センター秦野研究所 研究員
	中澤 裕之	星薬科大学 教授

協力機関 株式会社エスアールエル、株式会社荏原総合研究所、国土環境株式会社、コスモ石油株式会社、株式会社島津テクノリサーチ、株式会社東レリサーチセンター、東和科学株式会社、株式会社ビー・エム・エル、株式会社ユニチカ環境技術センター、和光純薬工業株式会社

研究要旨

ダイオキシン類の汚染実態やヒトへの曝露状況を把握するために、安価で簡便、迅速かつ高感度なスクリーニング法およびモニタリング法の開発が強く求められている。我々は平成 11～13 年度の厚生科学研究費補助金研究においてマウスモノクローナル抗体およびウサギポリクローナル抗体を用いた生体試料中ダイオキシンの酵素免疫測定法（ELISA）を開発し、それぞれキット化した。昨年度は、モノクローナル抗体を用いた ELISA キット（キット M）のダイオキシン簡便測定法としての有用性を評価するために、ダイオキシン標準品および標準品添加精製バターを共通試料としてハリデーション試験を実施し、簡易測定法としてほぼ満足できる結果を得た。本年度はダイオキシン標準品添加牛乳を試料として、前処理から ELISA まで一連の操作についてキット M を用いてハリデーション試験を行った。さらに、これら 3 種の試料について、ポリクローナル抗体を用いたキット（キット P）でのハリデーション試験をダイオキシン分析機関 8 社と当センターの 9 機関で実施した。

ダイオキシン添加牛乳をキット M で測定した時の測定機関内および機関間の相対変動係数はやや大きかったものの、ブランク試料濃度と逆転することはなかった。キット P による試験において、標準品試料および標準品添加精製バター試料を測定したときの機関間変動はやや大きかったものの、機関内変動はほとんどか 20% 以下であった。ダイオキシン添加牛乳についてもキット M と同等の結果であった。

これらの測定変動は簡易測定法としてほぼ満足できるものであり、また、測定値の濃度順位が逆転することはほとんどなかったことから、両 ELISA キットの生体試料中ダイオキシンのモニタリング法およびスクリーニング法としての有用性が示された。

A 研究目的

ダイオキシンによる環境や食物の汚染とそのヒトへの健康影響に対する懸念は大きく、ヒトの汚染実態を迅速に把握することが求められている。従来、ダイオキシンの測定には高分解能ガスクロマトグラフィー/マススペクトロメトリー（GC/MS）が用いられている。しかし、その試料前処理には他段階で煩雑なクリーンアップ操作を必要とし、測定に要する時間が長く、経費は著しく高価なものとなっていることから、安価で簡便、迅速かつ高感度なダイオキシンのスクリーニング法およびモニタリング法の開発が期待されている。

我々は平成 11～13 年度の厚生科学研究費補助金研究においてマウスモノクローナル抗体およびウサギポリクローナル抗体を用いた生体試料中ダイオキシンの酵素免疫測定法（ELISA）を開発してそれぞれキット化した。また、昨年度は、モノクローナル抗体を用いたダイオキシン ELISA キット（キットM）の簡易測定法としての有用性を評価するために、ダイオキシン標準品および標準品添加精製バターを共通試料としてダイオキシン分析機関 8 社と当センターの 9 機関でバリデーション試験を実施した。その結果は、簡易測定法としてほぼ満足できるものであった。

本年度は、ダイオキシン標準品添加牛乳を共通試料として、前処理から ELISA まで一連の操作についてキットMによるバリデーション試験を行った。さらに、これら 3 種の試料（ダイオキシン標準品、標準品添加精製バター、標準品添加牛乳）について、ポリクローナル抗体を用いたキット（キットP）での

バリデーション試験を前記の 9 機関で実施した。

B 研究方法

1. 測定機関

株式会社エスアールエル
株式会社荏原総合研究所
国土環境株式会社
株式会社島津テクノリサーチ
株式会社東レリサーチセンター
東和科学株式会社
株式会社ビー・エム・エル
株式会社ユニチカ環境技術センター
財団法人食品薬品安全センター

2 実験材料

1) 試薬

アセトン、エタノール、メタノール、*n* ヘキサン 和光純薬工業 ダイオキシン類分析用フルオロヘンゼン 和光純薬工業 再蒸留品
トリトン X 100 シグマ
ダイオキシン標準液 Cambridge Isotope Laboratories, Inc EDF 5008 (表 1)

その他に試薬 特級

2) 器材

ダイオキシン ELISA キットワコー（キットM）、プレセップ[®]フタロシアニン固定化シリカゲル（Wakogel P 29）和光純薬工業
イムノエコ DXN（キットP）コスモ石油
3層式シリカゲルカラム スヘルコ

3 試料の調製

1) 試料 I（標準品）

キットP ガラス試験管にダイオキシン標準液（低 中・高濃度）を添加して窒素ハー