

表5 平成17年度トータルダイエイト(1~14群)からのCo-PCBs類1日摂取量(ND=LOD/2)

食品群	(pgTEQ/day)															
	北海道地区				東北地区				関東地区				中部地区			
	I		II		I		II		I		II		I		II	
1群(米)	2.98		2.98		2.98		2.36		2.36		2.36		3.46		3.46	
2群(雑穀・芋)	1.87		1.87		1.87		1.73		1.73		1.73		1.65		1.65	
3群(砂糖・菓子)	0.26		0.26		0.26		0.36		0.36		0.36		0.34		0.34	
4群(油脂)	0.37		0.37		0.37		0.46		0.46		0.46		0.33		0.33	
5群(豆・豆加工品)	0.47		0.47		0.47		0.45		0.45		0.45		0.41		0.41	
6群(果実)	0.85		0.85		0.85		0.90		0.90		0.90		0.87		0.87	
7群(有色野菜)	0.53		0.53		0.53		0.86		0.86		0.86		0.64		0.64	
8群(野菜・海藻)	1.30		1.30		1.30		1.40		1.40		1.40		1.52		1.52	
9群(嗜好品)	2.59		2.59		2.59		3.79		3.79		3.79		2.96		2.96	
10群(魚介)	24.26	62.58	110.25	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#3
11群(肉・卵)	1.10	3.31	3.60	20.88	35.97	37.83	17.68	26.55	29.54	22.62	45.97	70.02	17.73	22.13	39.55	15.50
12群(乳・乳製品)	1.28	2.41	2.60	0.57	0.68	6.91	1.49	0.82	2.63	0.74	0.83	1.67	1.35	1.50	4.65	2.23
13群(加工食品)	0.56			1.11	1.98	1.93	1.23	1.31	1.49	1.13	1.15	1.14	1.01	1.03	1.10	1.19
14群(飲料水)	0.04			0.56			0.70			0.70			0.53			0.53
総摂取量(pgTEQ/day)	38.46	80.11	128.26	34.38	50.44	58.49	33.44	41.72	46.69	37.52	60.98	85.86	32.82	37.39	58.04	31.65
摂取量(pgTEQ/kg bw/day)	0.77	1.60	2.57	0.69	1.01	1.17	0.67	0.83	0.93	0.75	1.22	1.72	0.66	0.75	1.16	0.63

食品群	関西地区			中国・四国地区			九州地区			平均摂取量	標準偏差	比率(%)
	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3			
1群(米)	3.66			3.31			3.31			3.10	0.47	5.67
2群(雑穀・芋)	2.31			1.56			1.56			1.77	0.23	3.24
3群(砂糖・菓子)	0.44			0.26			0.26			0.32	0.06	0.59
4群(油脂)	0.41			0.35			0.35			0.38	0.05	0.70
5群(豆・豆加工品)	0.54			0.41			0.41			0.45	0.04	0.82
6群(果実)	0.85			0.93			0.93			0.88	0.03	1.62
7群(有色野菜)	0.65			0.70			0.70			0.68	0.12	1.24
8群(野菜・海藻)	1.13			1.47			1.47			1.39	0.13	2.55
9群(嗜好品)	3.40			3.51			3.51			3.23	0.47	5.92
10群(魚介)	20.86	22.29	43.06	40.88	57.47	54.75	22.99	37.60	43.44	38.11	21.58	69.78
11群(肉・卵)	1.45	2.55	2.60	2.03	3.80	3.74	1.22	1.83	1.92	2.31	1.50	4.23
12群(乳・乳製品)	1.25	1.33	2.47	1.00	1.02	1.02	0.99	0.99	1.01	1.36	0.48	2.48
13群(加工食品)	0.58			0.65			0.65			0.61	0.07	1.11
14群(飲料水)	0.04			0.04			0.04			0.04	0.00	0.07
総摂取量(pgTEQ/day)	37.58	40.18	62.13	57.10	75.47	72.69	38.38	53.60	59.55	54.61	22.37	100.00
摂取量(pgTEQ/kg bw/day)	0.75	0.80	1.24	1.14	1.51	1.45	0.77	1.07	1.19	1.09	0.45	

\* 一部の地域(北海道及び東北地区、中国・四国及び九州地区)の食品群1~9、13及び14群は共通試料を使用した。

\*\* 食品群10~12におけるダイエイト類(PCDDs+PCDFs+Co-PCBs)摂取量(ND=0)の最小値の組み合わせを#1、中央値の組み合わせを#2、最大値の組み合わせを#3とした。

表6 平成17年度トータルダイエイト(1~14群)からのダイオキシン類1日摂取量(ND=LOD/2)

食品群	(pgTEQ/day)																	
	北海道地区				東北地区				関東地区				中部地区					
				#1	#2	#3				#1	#2	#3				#1	#2	#3
1群(米)	12.45			12.45			9.68			9.68			14.48			14.48		
2群(雑穀・芋)	7.77			7.77			6.21			6.21			6.68			6.68		
3群(砂糖・菓子)	1.07			1.07			1.37			1.37			1.31			1.31		
4群(油脂)	1.51			1.51			1.82			1.82			1.39			1.39		
5群(豆・豆加工品)	1.96			1.96			1.67			1.67			1.74			1.74		
6群(果実)	3.56			3.56			3.74			3.74			3.64			3.64		
7群(有色野菜)	2.23			2.23			3.20			3.20			2.54			2.54		
8群(野菜・海藻)	5.48			5.48			5.74			5.74			6.12			6.12		
9群(嗜好品)	10.84			10.84			15.85			15.85			12.36			12.36		
10群(魚介)	34.55	84.47	156.01	31.85	54.58	63.04	25.63	37.26	41.47	34.99	65.21	96.23	32.83	37.76	61.89	22.00	26.87	85.46
11群(肉・卵)	3.95	6.13	6.85	2.34	2.45	11.59	3.67	6.76	20.21	2.84	2.96	4.17	3.44	3.53	7.00	4.78	6.17	8.95
12群(乳・乳製品)	5.29	6.87	20.50	4.46	5.74	6.75	4.63	4.72	5.36	4.58	4.59	5.60	4.09	4.52	5.54	4.84	4.84	4.98
13群(加工食品)	2.36			2.36			2.90			2.90			2.21			2.21		
14群(飲料水)	0.16			0.16			0.16			0.16			0.16			0.16		
総摂取量(pgTEQ/day)	93.19	146.87	232.76	88.05	112.17	130.78	86.27	101.08	119.38	94.75	125.10	158.34	92.99	98.44	127.06	84.26	90.52	152.02
摂取量(logTEQ/kg bw/day)	1.86	2.94	4.66	1.76	2.24	2.62	1.73	2.02	2.39	1.90	2.50	3.17	1.86	1.97	2.54	1.69	1.81	3.04

食品群	関西地区			中国・四国地区			九州地区			平均摂取量	標準偏差	比率(%)
	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3			
1群(米)	15.30			13.82			13.82			12.91	2.05	10.78
2群(雑穀・芋)	9.60			6.52			6.52			7.11	1.10	5.93
3群(砂糖・菓子)	1.85			1.02			1.02			1.27	0.27	1.06
4群(油脂)	1.70			1.41			1.41			1.55	0.18	1.30
5群(豆・豆加工品)	2.27			1.72			1.72			1.83	0.20	1.53
6群(果実)	3.55			3.89			3.89			3.69	0.13	3.08
7群(有色野菜)	2.96			2.91			2.91			2.75	0.38	2.29
8群(野菜・海藻)	4.73			6.16			6.16			5.75	0.47	4.80
9群(嗜好品)	14.19			14.67			14.67			13.51	1.97	11.29
10群(魚介)	33.04	37.56	64.48	59.03	74.37	82.15	33.17	50.34	67.30	55.32	29.06	46.20
11群(肉・卵)	3.62	6.59	5.08	5.02	7.21	7.24	3.99	5.02	5.07	5.80	3.57	4.84
12群(乳・乳製品)	5.00	5.55	6.67	4.12	4.17	4.18	4.02	4.03	5.19	5.59	3.09	4.67
13群(加工食品)	2.34			2.69			2.69			2.52	0.28	2.10
14群(飲料水)	0.16			0.16			0.16			0.16	0.00	0.13
総摂取量(pgTEQ/day)	100.32	108.36	134.90	123.14	140.71	148.54	96.15	114.37	132.52	119.74	31.72	100.00
摂取量(logTEQ/kg bw/day)	2.01	2.17	2.70	2.46	2.81	2.97	1.92	2.29	2.65	2.39	0.63	

\* 一部の地域(北海道及び東北地区、中国・四国及び九州地区)の食品群1~9、13及び14群は共通試料を使用した。  
 \*\* 食品群10~12におけるダイオキシン類(PCDDs+PCDFs+Co-PCBs)摂取量(ND=0)の最小値の組み合わせを#1、中央値の組み合わせを#2、最大値の組み合わせを#3とした。

表 7 機関別ダイオキシン類1日摂取量の経年推移(平成10~17年度)

地 区		PCDDs+PCDFs+Co-PCBs (pgTEQ/kgbw/day) ND=0							
		平成10年度	平成11年度	平成12年度	平成13年度	平成14年度	平成15年度	平成16年度	平成17年度
北海道地区	A	2.77	1.29	0.84	0.67	0.88	0.84	0.48	0.67
						0.94	1.03	1.03	1.80
						1.44	1.33	2.48	3.56
東北地区	A	1.26	1.47	1.10	-	-	-	-	-
		-	1.65	1.92	2.02	1.16	0.72	0.48	0.64
	B					1.46	0.84	0.80	1.15
					2.05	1.35	2.93	1.57	
関東地区	A	2.06	4.04	1.30	1.08	1.46	0.78	1.64	0.55
						2.01	1.86	1.80	0.87
						2.76	3.05	1.87	1.26
	B	2.14	1.59	1.72	1.99	1.34	0.90	-	-
						2.33	1.01	-	-
						3.40	2.93	-	-
C	2.00	1.68	1.48	1.42	0.90	1.02	1.05	0.70	
					1.17	1.06	1.75	1.33	
					1.51	2.05	2.34	2.03	
中部地区	A	-	1.53	1.44	-	-	-	-	-
		1.87	1.57	1.41	1.65	1.40	1.34	0.72	0.69
	B					1.67	1.48	0.91	0.80
						1.93	1.86	1.83	1.40
	C	2.03	2.42	1.80	1.53	0.62	0.58	0.64	0.47
						0.68	1.15	0.71	0.60
				1.28	1.50	2.03	1.86		
関西地区	A	-	7.01	2.01	-	-	-	-	-
		2.72	1.79	1.43	1.33	0.96	0.77	1.32	0.67
	B					1.39	1.15	1.86	0.82
						2.75	1.58	2.25	1.42
	C	-	1.89	2.01	2.00	1.40	-	-	-
						1.78	-	-	-
				2.02	-	-	-		
中国四国地区	A	-	3.59	-	-	-	-	-	-
		-	-	0.98	0.88	0.79	0.62	-	-
	B					0.98	1.22	-	-
						1.22	1.56	-	-
	C	1.22	1.48	1.40	1.60	0.73	1.03	1.19	1.20
						1.54	1.51	1.35	1.57
				2.12	2.05	1.72	1.72		
九州地区	A	1.99	1.84	1.55	3.40	0.57	0.85	0.61	0.66
						1.18	1.04	0.99	1.05
	B					1.81	1.83	1.27	1.44
平均		2.00	2.25	1.45	1.63	1.49	1.33	1.41	1.20

平成10~12年度の摂取量は、平成12年度厚生科学研究費補助金研究事業「ダイオキシン類の食品経由総摂取量調査研究報告書」から、平成13~15年度の摂取量は、平成15年度厚生労働科学研究費補助金研究事業「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報告書」から、平成16年度の摂取量は、平成16年度厚生労働科学研究費補助金研究事業「ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究報告書」から引用した。

## 分担研究報告書

### 2. 個別食品のダイオキシン類汚染実態調査

#### 2-1. 個別食品のダイオキシン類汚染実態調査

分担研究者 天倉 吉章

(国立医薬品食品衛生研究所)

(2) 個別食品のダイオキシン類汚染実態調査  
(2-1) 個別食品のダイオキシン類汚染実態調査

分担研究者 天倉吉章 国立医薬品食品衛生研究所

**研究要旨**

魚介類及びその加工品 41 試料について、PCDDs 7 種、PCDFs 10 種及び 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、最も濃度が高かったのは、さめの 6.141 pgTEQ/g 次いでめかじきの 4.034 pgTEQ/g、まぐろの 3.932 pgTEQ/g であった。

平成 13～17 年度の魚介類試料の分析値、農林水産統計月報に掲載された平成 14～16 年の 10 都市中央卸売市場における水産物魚種別の市場入荷量、及び国民栄養調査の魚介類一日摂取量から、魚介類からのダイオキシン類摂取量の推定を試みた結果、平均摂取量は 1.44 pgTEQ/kgbw/day と推定され、トータルダイエツトによる摂取量調査結果と概ね一致した。

**研究協力者**

(財) 日本食品分析センター

丹野憲二，野村孝一，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

**A. 研究目的**

トータルダイエツト法によるダイオキシン類の摂取量調査結果から、ダイオキシン類の摂取源は主に魚介類であることが分かっている。そこで、本研究では食品のダイオキシン類汚染実態を把握し、個人別暴露量を正確に評価するためのデータ蓄積を目的に、魚介類及びその加工品について、ダイオキシン類含有量を調査した。

**B. 研究方法**

**1. 試料**

調査対象食品は、国内産生鮮魚介類（20 試料）、輸入魚介類（11 試料）及び魚介類の国産加工品（10 試料）であり、東京、神奈川及び北海道の小売店で平成 17 年度に購入した。

**2. 試験項目及び検出限界**

WHO が毒性等価係数(TEF)を定めた下記の PCDDs 7 種、PCDFs 10 種及び 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。

**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

ダイオキシン類の分析は、「食品中のダイオキシン類測定方法ガイドライン」(厚生労働省、平成11年10月)に従った。

### 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。

### 5. ダイオキシン類摂取量の推定

魚介類試料の分析値と、各魚介類の摂取量から、ダイオキシン類摂取量の推定を試みた。

魚介類試料の分析値として、平成13～15年度に実施された厚生労働科学研究費補助金研究事業「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」(主任研究者平成13年度：豊田正武、平成14、15年度：佐々木久美子)の個別食品(水産物)の分析結果、本研究の平成16年度及び本年度の分析結果を用いた。国産品と輸入品を区別せずに全ての分析データを用いた。

各魚介類の摂取比率に関するデータとして、農林水産統計月報に掲載された、平成14～16年の10都市中央卸売市場における水産物魚種別の市場入荷量を用いた。本統計に示された魚介類の総入荷量に対する各魚介類の入荷量の比率を魚介類摂取の比率とした。

魚介類の一日摂取量としては、分担研究「ダイオキシン類の摂取量に関する研究」で用いたものと同じ、平成13年度国民栄養調査(厚生労働省)に基づいた魚介類摂取量全国平均値(94g)を用いた。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 魚介類の調査結果

生鮮魚類31試料及び魚介類加工品10試料を分析し、結果を表1に示した。

1魚種につき2試料を分析したが、2試料の何れにおいても比較的濃度が高かったのは、さわら(2.523及び1.829 pgTEQ/g)、めかじき(2.416及び4.034 pgTEQ/g)であった。最高値はさめの6.141 pgTEQ/gであったが、さめのも

う1試料は0.788 pgTEQ/gであり、試料による差が大きかった。同様に、ぎんだら、まぐろ、ます、ずわいがに棒肉では、試料により濃度が大きく異なった。

ダイオキシン類に占めるCo-PCBsの割合は、全試料平均では66.7%であったが、赤貝では、19.4%、19.7%、いいたこでは28.2%、41.4%、かきでは44.8%と、Co-PCBsの比率がPCDD/Fsより低かった。平成16年度に調査したえびでも同様にCo-PCBsの比率がPCDD/Fsより低かった。一般に魚介類ではCo-PCBsの比率が高いが甲殻類、貝類ではPCDD/Fsの比率が高い傾向が認められた。

EUではPCDD/Fsに4 pgTEQ/gの基準を設けている。本年度調査した魚介類から検出されたPCDD/Fsの最高値はさめの2.040 pgTEQ/gであり、EUの基準を超えたものはなかった。

### 2. ダイオキシン類摂取量の推定

表2に推定の結果を示した。

10都市における水産物魚種別市場入荷量の入荷量比率に応じて国民が魚介類を摂取していると仮定して、平成13年度国民栄養調査による魚介類の一日摂取量の平均値(94g)に基づいて各魚介類の摂取量をもとめた。

平成13～17年度調査の各魚介類(国産品、輸入品を含む)の分析データの最小値、平均値及び最大値を求め、それぞれに各魚介類の摂取量を乗じてダイオキシン類摂取量を求めた。

ダイオキシン類摂取量の合計値は、分析データの最小値を用いた場合は25.8 pgTEQ、平均値を用いた場合は71.9 pgTEQ、最大値を用いた場合は148.9 pgTEQであった。

日本人の体重を50kgとして体重あたりの摂取量をもとめると、それぞれ、0.52、1.44、2.98 pgTEQ/kgbw/dayとなる。

計算に用いた10都市における水産物魚種別市場入荷量の統計には、入荷量が少ない魚介類は含まれておらず、また、市場を通らない魚介類の流通もあると考えられるため、国民の魚介類摂取の実態を正確に反映しているとはいえない。しかし、代表的な魚介類は含まれており、ダイオキシン類濃度に関して魚種を恣意的に選

扱っていないので、ダイオキシン類摂取量推定に使用できると考えられる。全魚種の中では、ぶり類の入荷量が最も多く、全体の 8.4 %であった。

本年度の分担研究「ダイオキシン類の摂取量に関する研究」によると、トータルダイエツト調査によるダイオキシン類の平均摂取量は  $1.20 \pm 0.66$  (範囲 0.47 ~ 3.56) pgTEQ/kgbw/day であり、そのうちの 90.6%が魚介類からの摂取であった。トータルダイエツト調査から得られたダイオキシン類摂取量と、魚介類の汚染実態調査から推定した摂取量は概ねよく一致した。

#### D. 結論

1. 魚介類 41 試料について、ダイオキシン類濃度を調査した結果、最も濃度が高かったのは、さめの 6.141 pgTEQ/g、次いでめかじきの 4.034 pgTEQ/g、まぐろの 3.932 pgTEQ/g であった。
2. 平成 13 ~ 17 年度の魚介類試料の分析値、平成 14 ~ 16 年の 10 都市中央卸売市場における水産物魚種別市場入荷量及び国民栄養調査の魚介類摂取量から、魚介類からのダイオキシン類摂取量の推定を試みた結果、平均摂取量は 1.44 pgTEQ/kgbw/day と推定され、トータルダ

イエツトによる摂取量調査結果と概ね一致した。

#### 【参考文献】

- 1) 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、14 年度研究報告書及び 15 年度研究報告書
- 2) 厚生労働科学研究「ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究」平成 16 年度研究報告書
- 3) 農林水産統計月報  
<http://www.maff.go.jp/toukei/geppo/geppo.html>  
水産物の市場入荷量及び市場平均価格 (10 都市中央卸売市場)  
<http://www.maff.go.jp/toukei/geppo/g056059.xls>

#### E. 研究業績

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

表1 平成17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-PCBs	Total	
生鮮魚介類	あゆ	国産	0.031	0.296	0.327
	いさき	国産	0.034	0.069	0.103
	きびなご	国産	0.359	0.500	0.860
	ぎんだら	輸入	0.597	1.318	1.914
	ぎんだら	輸入	0.082	0.185	0.267
	さめ	国産	0.248	0.540	0.788
	さめ	国産	2.040	4.102	6.141
	さわら	国産	0.767	1.756	2.523
	さわら	国産	0.597	1.231	1.829
	ふぐ	国産	0.034	0.022	0.056
	ふぐ	国産	0.001	0.012	0.013
	まぐろ	国産	0.000	0.035	0.035
	まぐろ	国産	0.952	2.980	3.932
	ます	輸入	0.356	1.227	1.582
	ます	輸入	0.013	0.121	0.135
	まだい	国産	0.133	0.719	0.853
	まだい	国産	0.795	0.662	1.457
	むきがれい(おひょう)	輸入	0.008	0.061	0.069
	むろあじ	国産	0.210	0.203	0.412
	むろあじ	国産	0.219	0.166	0.384
	めかじき	国産	0.747	1.669	2.416
	めかじき	国産	0.969	3.066	4.034
	メルルーサ	輸入	0.028	0.164	0.192
	いいだこ	国産	0.648	0.255	0.903
	いいだこ	国産	0.536	0.379	0.915
	かき	輸入	0.105	0.086	0.192
	すじこ(生)	国産	0.053	0.156	0.209
	ずわいがに棒肉	輸入	0.262	0.179	0.442
	ずわいがに棒肉	輸入	0.005	0.030	0.035
	赤貝	国産	0.151	0.036	0.186
赤貝	国産	0.152	0.037	0.188	
魚介類加工品	あみ佃煮	国産加工品	0.032	0.059	0.091
	あみ佃煮	国産加工品	0.135	0.079	0.214
	かます干物	国産加工品	0.279	0.621	0.900
	かます干物	国産加工品	0.177	0.411	0.587
	小女子佃煮	国産加工品	0.228	0.286	0.514
	小女子佃煮	国産加工品	0.138	0.335	0.472
	すじこ	国産加工品	0.032	0.109	0.141
	すじこ	国産加工品	0.070	0.188	0.257
	たらこ	国産加工品	0.013	0.105	0.118
	たらこ	国産加工品	0.008	0.078	0.086



表2 水産物の市場入荷量割合と個別食品実態調査結果から推定したダイオキシン類摂取量

水産物	分類	入荷量		ダイオキシン類(PCDDs/PCDFs+Co-PCBs)分析値 (pgTEQ/g)												ダイオキシン類摂取量 (pgTEQ)			備考				
		(t)	(%)	2001年度			2002年度			2003年度			2004年度			2005年度				データ数	最小	平均	最大
				2001年度	2002年度	2003年度	2004年度	2005年度	2004年度	2005年度	2004年度	2005年度	2004年度	2005年度	2004年度	2005年度							
ぶり類	天然+養殖	84342	8.4	7.9	1.344	3.578	3.583	3.221	3.566	4.391	2.668	2.036	2.969	3.040	2.111	0.716	2.769	4.391	5.645	21.829	34.621		
さけ類	冷凍	68829	6.8	6.4	1.271	1.335	0.067	0.067	0.034	0.453	0.092					1.582	0.034	0.560	1.582	0.219	3.600	10.179	2005: ㄨ
さば類	生鮮+冷凍	68590	6.8	6.4	1.555		2.517	1.635	1.113			1.615	2.696			1.113	1.855	2.696	7.137	11.895	17.287		
めばち	生鮮+冷凍	62269	6.2	5.8	0.134						0.298					2	0.134	0.216	0.298	0.780	1.257	1.735	
するめいか	生鮮+冷凍	61250	6.1	5.7	0.001											2	0.001	0.013	0.026	0.003	0.076	0.149	
まあじ	生鮮+冷凍	54801	5.4	5.1							0.403	0.261				5	0.261	0.684	1.308	1.337	3.502	6.701	
えび類	輸入+国内	53818	5.4	5.0							0.027	0.020	0.333	0.248		4	0.020	0.157	0.333	0.101	0.790	1.675	
さんま	生鮮+冷凍	50974	5.1	4.8							0.254	0.317	0.260	0.287		4	0.254	0.280	0.317	1.210	1.332	1.511	
さけ類	塩蔵	49247	4.9	4.6	6.096	1.946	0.807	0.051	0.392	0.463		0.268	0.170	0.432	0.177	11	0.051	0.996	6.096	0.235	4.587	28.064	
かれい類	生鮮+冷凍	42381	4.2	4.0	0.134			0.111	0.209							3	0.111	0.151	0.209	0.440	0.600	0.828	
まだい	生鮮	41034	4.1	3.8	0.408											3	0.408	0.906	1.457	1.565	3.475	5.589	
きはだ	生鮮+冷凍	37561	3.7	3.5												0				0	0	0	
まぐろ	生鮮+冷凍	32779	3.3	3.1	0.026			0.395	1.498	0.013	1.957					7	0.013	1.122	3.932	0.040	3.439	12.049	
たこ類	冷凍	29045	2.9	2.7	0.078	0.002										4	0.002	0.475	0.915	0.005	1.288	2.484	2005: 14ﾀﾞｺ
かつお	生鮮	28515	2.8	2.7		0.917	0.048	0.276	0.323		0.696	0.223				6	0.048	0.414	0.917	0.128	1.103	2.444	
さわら類	生鮮+冷凍	23743	2.4	2.2				0.244	0.001							3	0.001	0.102	0.244	0.002	0.199	0.477	
あさり	生鮮+冷凍	20896	2.1	2.0	0.061			0.067	0.079	0.027						5	0.027	0.054	0.079	0.051	0.102	0.150	
たらい	生鮮+冷凍	20275	2.0	1.9	0.067	0.028		0.768	0.322	0.607		0.534	0.566			5	0.322	0.559	0.768	0.581	1.010	1.386	
まいわし	生鮮	19309	1.9	1.8								0.217	0.194			2	0.194	0.206	0.217	0.350	0.370	0.391	
あじ	塩干	19280	1.9	1.8				0.029	0.377							4	0.029	0.136	0.377	0.043	0.203	0.564	ｽｯﾄﾗﾝﾌﾞ魚体
すり身	冷凍	16006	1.6	1.5	0.068			3.471	0.469							12	0.068	0.726	3.471	0.009	1.049	5.018	
かに類	生鮮	15464	1.5	1.4	2.401	0.061	0.585	0.118	0.469		0.292	0.814	0.016	0.006	0.442	2	0.066	0.102	0.118	0.108	0.129	0.149	
たらこ	塩蔵	13495	1.3	1.3				1.081								2	0.086	0.102	0.118	0.108	0.129	0.149	
いわし	塩干	13295	1.3	1.2	2.355	3.518	0.776	1.146								5	0.776	1.775	3.518	0.964	2.206	4.373	
かき	生鮮+むき身	12793	1.3	1.2				0.361	0.614	0.080						4	0.080	0.312	0.614	0.096	0.373	0.734	
ほたてがい	生鮮+殻付	12044	1.2	1.1				0.112	0.288	0.015						3	0.015	0.138	0.288	0.017	0.156	0.324	
さけ・ますの卵	塩蔵	10597	1.1	1.0												4	0.141	0.243	0.409	0.140	0.240	0.405	2004: 生
ひらめ	生鮮	8077	0.8	0.8	0.109			0.187	0.202		0.409	0.163				3	0.109	0.166	0.202	0.082	0.125	0.153	
にしん	冷凍	7801	0.8	0.7							0.505	0.804				2	0.505	0.655	0.804	0.368	0.477	0.586	
こういか類	冷凍	7489	0.7	0.7	0.010											3	0.010	0.010	0.010	0.010	0.007	0.007	
かじき類	冷凍	6671	0.7	0.6	0.176			4.317	5.484	1.166						1	0.010	0.010	0.010	0.010	0.007	0.007	
かずのこ	塩蔵	6227	0.6	0.6							3.031	2.778				9	0.176	2.703	5.484	0.110	1.685	3.420	
ます類	塩蔵	5017	0.5	0.5												0				0	0	0	
くるまえび	生鮮	1622	0.2	0.2												0				0	0	0	
合計		1005537	100	94																25.8	71.9	149.1	

：塩蔵、塩干品

入荷量は、農林水産統計月報の水産物の市場入荷量及び市場平均価格（10都府県卸売市場）から引用した。

入荷量は2002～2004年の年間入荷量平均値（t）、本統計に示された水産物全体の入荷量に対する比率（%）

摂取量は、平成13年度国民栄養調査による国民平均魚介類摂取量（94g）を各魚介類の入荷量比率で振り分けた値

## 分担研究報告書

### 2. 個別食品のダイオキシン類汚染実態調査

#### 2-2. 植物を利用した汚染浄化技術に関する基礎検討

分担研究者 天倉 吉章

(国立医薬品食品衛生研究所)

分担研究報告書

(2) 個別食品のダイオキシン類汚染実態調査  
(2-2) 植物を利用した汚染浄化技術に関する基礎検討

分担研究者 天倉吉章 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

これまでの個別食品のダイオキシン類実態調査から、食品汚染に影響を与える一因として土壌汚染があげられるため、その軽減を志向した対策研究として、植物を利用した浄化技術（ファイトレメディエーション）に関する予備検討を行った。ダイオキシン類浄化の可能性を模索するため、まず3種の脂溶性の有機塩素系農薬〔2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), alachlor, atrazine〕を対象とした。ホスト植物にはプラント・マスの大きなタバコをモデル植物とし、物質輸送能と改変するために広い基質特異性を有する ABC (ATP-binding cassette) タンパク質の MRP (multidrug resistance associated protein) サブファミリーの一種 MRP1 遺伝子を選択し、これを発現させた植物を実験植物体とした。本実験系で、形質転換 (MRP1) タバコ及び野生 (Wild) タバコの3農薬に対する抵抗性と吸収除去能について検討した結果、両タバコとも2,4-Dに対しては抵抗性が観察されなかったが、alachlor, atrazine に対しては MRP1 タバコに抵抗性が示され、特に atrazine では顕著な抵抗性の差が認められた。一方、3農薬の吸収除去能については経日的な吸収は認められたが、両タバコ間に顕著な差は認められなかった。

研究協力者

京都大学生存圏研究所

矢崎一史, 廣岡孝志

国立医薬品食品衛生研究所

佐々木久美子, 堤 智昭

A. 研究目的

平成9年度から始まった「ダイオキシン類総合調査研究事業」などにより、ダイオキシンの生成機構、汚染実態、汚染経路などが明らかとなり、それを基盤とした様々な削減対策が実施され、それ以降、我が国の一般社会における汚染レベルは減少傾向が認められている。また平成9年度から厚生労働科学研究の一環として継続的に行われているトータルダイエット試料による日常食からのダイオキシン類摂取量調査においても、ここ5年間は日本における耐容一

日摂取量 (4 pg-TEQ/kgbw/day) を下回る約 1.5 pg-TEQ/kgbw/day で横這いに推移しており、今後はこれら調査結果に基づいたダイオキシン汚染レベルの軽減に向けた具体的な方策を講じる研究を模索する必要がある。現在の食品中のダイオキシン濃度は、自浄能力だけでは除去出来ない残留した環境濃度が反映しており、汚染状況をゼロにすることは不可能に近い。今後の取り組みとして、環境に負担の少ない形でそれらをいかに取り除いていくか、その浄化システムの構築が課題の一つとして考えられる。そこでその取り組みの一案として、植物を使った環境浄化技術（ファイトレメディエーション）の利用に着目した。

ファイトレメディエーションはランニングコストも低く、土壌などの環境資源の有効機能を損なうことなく修復することが期

待され、これまで主に重金属の浄化に関する検討が行われている。またダイオキシン類についての検討も少数例ある。しかしファイトレメディエーションはその可能性が期待される一方、多大な予備検討が要求され、実用化に向けてはクリアしなければならない問題も多い。

本研究では、ABC (ATP-binding cassette) タンパク質のもつ物質輸送能とその基質特異性の広さに着目し、これを植物細胞で分子ポンプとして機能させた遺伝子組換え植物を用いて、その体内へダイオキシン類を吸収することでこれを土壤中から効率的に除去する可能性を模索し、食品汚染濃度へ反映している現在の汚染レベルを軽減させることを目標とする。まずその予備検討の一つとして、ABC タンパク質 MRP (multidrug resistance associated protein) サブファミリーの一つである薬剤排出ポンプ MRP1 発現植物を実験植物として選択し、3種の有機塩素系農薬(除草剤)を対象にその可能性を検討した。

## B. 研究方法

### 1. 試薬, 試液

有機塩素系農薬:

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid(2,4-D) はナカライテスク製を用いた。Alachlor, atrazine は和光純薬工業製を用いた。その他の試薬はすべて特級又は高速液体クロマトグラフィー用を用いた。

### 2. 植物体

ABC タンパク質サブファミリーの中の薬剤排出ポンプの一つであるヒト *mrp1* 遺伝子を導入、発現させたタバコ (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN) を実験植物 (MRP1 タバコ) として使用した。野生株のタバコを対照植物 (Wild タバコ) として使用した。

### 3. 植物体の栽培

MRP1 発現体 (クローン名 P3) あるいは Wild タバコの種表面を、有効塩素濃度 5% の次亜塩素ナトリウムと 0.02% triton-X100

を含む水溶液を用いて滅菌処理した。これらの種を 1/2LS 寒天培地上で発芽させた後、25°C, 16 時間明-8 時間暗の光照射条件下で3ヶ月から4ヶ月無菌栽培した。その後、さらに 1/10LS 液体培地 (1/2LS 液体培地を5倍希釈したもの) を用いて、25°C, 16 時間明-8 時間暗の光照射条件下で1ヶ月間有菌水耕栽培したタバコを農薬耐性試験に供した。

1/2LS 培地の組成:  $H_3BO_3$  (3.09 mg),  $MnSO_4 \cdot nH_2O$  (12.05 mg),  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  (4.315 mg), KI (0.415 mg),  $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$  (0.121 mg),  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  (0.0125 mg),  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  (0.012 mg),  $KH_2PO_4$  (85 mg),  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (185 mg),  $NH_4NO_3$  (825 mg),  $KNO_3$  (950 mg),  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  (220 mg),  $NaFeEDTA \cdot 3H_2O$  (21.055 mg), チアミン塩酸塩 (0.2 mg), イノシトール (50 mg), スクロース (15 g) を蒸留水 1 L に溶解し、pH5.8 とした。

### 4. 耐性試験

2,4-D, alachlor 及び atrazine をジメチルスルホキシド (DMSO) 溶液 (1000 mg/L) とし、これを用いて各農薬含有 1/10LS 液体培地 (10 mg/L) を作成した。農薬含有液体培地 10 mL が入った遠沈管に各タバコを移植した後、14 mL まで農薬含有液体培地をメスアップした。これらタバコを、25°C, 16 時間明-8 時間暗の光照射条件下で10日または14日間水耕栽培した。

### 5. 農薬測定

タバコ水耕栽培中、1日ごとに培地内の各農薬濃度を HPLC により測定した。測定条件は下記に従った。

使用機器: HPLC (Elite LaChrom system: 日立), カラム: Cosmosil 5C<sub>18</sub> MSII (ナカライテスク社製), 溶媒①: 50%アセトニトリル-1%酢酸 (1:1), 溶媒②: 50%アセトニトリル, 溶媒③: 60%メタノール (0.3%酢酸含), カラム温度: 40°C, 検出波長: 220, 254, 280 nm.

## C. 研究結果及び考察

### 1.3 農薬に対する MRP1 タバコの抵抗性

MRP1 及び Wild タバコ各 3 本を各農薬含有液体培地中で 10 日間水耕栽培した。2,4-D に暴露させた系では、両タバコとも栽培開始 16 時間後に葉に変化が生じ、4 日目には完全に枯れてしまった。従って、両タバコとも 2,4-D に対する抵抗性は弱く、その差は認められなかった。Alachlor を暴露させた系では、Wild タバコの葉に変化が生じ、培養 10 日目に枯れはじめ、MRP1 タバコに若干の抵抗性が示された。Atrazine 含有 1/10LS 液体培地では、栽培開始 7 日目に両タバコ間の形態に変化が観察され、10 日目に Wild タバコはすべて枯れてしまった。一方、MRP1 タバコは 1 本枯れたのみであった。また根の生育量に視覚的な差が観察された。そこで再度 atrazine に対する耐性試験を行い、再現性の確認を試みた。MRP1 及び Wild タバコ各 5 本について、atrazine 含有 1/10LS 液体培地で 14 日間水耕栽培を行った。その結果、前試験と同様、栽培 7 日目から両タバコ間で葉に変化が観察され始め、12 日目には明らかな抵抗性の差が示された。図 1 は両タバコの 12 日目の形態変化を示したもので、MRP1 タバコに atrazine に対する抵抗性が観察された。

### 2. MRP1 タバコの 3 農薬吸収除去能

図 2 に MRP1 及び Wild タバコを暴露させた液体培地中の 2,4-D, alachlor 及び atrazine の濃度変化を示す。両タバコにおいて経日的な 3 農薬の減少(吸収)は認められたが、両植物間における濃度変化の差はなく、顕著な除去能力の差は認められなかった。

### 3. 考察

MRP1 タバコの atrazine に対する除去能力は、Wild タバコと差を認めなかったが、抵抗力に差が認められたことは、耐性の高い植物個体を長期的に栽培することによって生長を続けるプラント・マスに atrazine

を溜め続けることを意味しており、土壌中の除去の可能性が示唆される。

ABC タンパク MRP1 は、輸送基質特異性が低く、化学構造に直接類似のない種々の抗がん剤、また様々な脂溶性の生体異物と直接結合し、ATP 加水分解エネルギーにより物質を排出させる。今回、これをタバコに発現させ、物質を液胞内へ輸送隔離することを期待した。一方で、MRP タイプの輸送体の場合、基質としては負電荷を持った化合物に親和性が高い傾向があり、特にグルタチオンなどの抱合体を良い基質として輸送することが知られている。今回供試した 3 種の農薬の植物体内での代謝については、triazine 系除草剤である atrazine と chloroacetanilide 系除草剤である alachlor は、主に植物細胞内でグルタチオン抱合体として液胞に輸送されるのに対し、phenoxyalkanoic acid 系除草剤である 2,4-D は主にグルコース抱合体として輸送されると報告されている。本研究で用いた MRP1 はタバコで発現させるとその液胞膜に発現することも確認されている。これらをまとめて考察すると、MRP1 タバコが alachlor や atrazine に対して抵抗性を示したことは、タバコ細胞内にこれら 2 農薬のグルタチオン抱合体が MRP1 により液胞内に蓄積され、Wild タバコよりもその毒性発現速度が低下したことが考察される。一方、2,4-D については、MRP1 による輸送基質になれなかったことが考察される。今後、抱合体を含めた検討についても考慮する必要性が示唆された。

## D. 結論

形質転換株 (MRP1) と野生株 (Wild) のタバコの 3 種有機塩素系農薬 (2,4-D, alachlor, atrazine) に対する抵抗性と吸収除去能について検討を行った。その結果、2,4-D に対する抵抗性については、両タバコとも培養 4 日目で完全に枯れ、差は認められなかった。Alachlor に対しては、両タバコを比較した結果、MRP1 タバコに僅かな

抵抗性が認められた。Atrazine に対しては、Wild タバコと比較の結果、MRP1 タバコに明らかな抵抗性が認められた。一方、培地中の各農薬濃度を検討した結果、3 農薬とも両タバコ間に顕著な吸収除去能の差は認められなかった。

#### E. 参考文献

- ・ 矢崎一史：高等植物における ABC タンパク質スーパーファミリー、バイオサイエンスとインダストリー、**60**, 17-22 (2002)。
- ・ 土反伸和, 矢崎一史：植物 ABC タンパク質スーパーファミリーの多様性, 生化学, **76**, 1221-1224 (2004)。
- ・ 殷熙洙, 渡邊栄喜, 服部眞幸, 西原英治, ダイオキシン類軽減・除去のためのファイトレメディエーション, 第 12 回環境化学討論会講演要旨集, P180 (2003)。
- ・ 竹田竜嗣, 森田真弘, 川村三郎, 松本貞義, 米虫節夫, 沢辺昭義, 草本植物による重金属の集積とファイトレメディエーションへの適用, 第 12 回環境化学討論会講演要旨集, P814 (2003)。
- ・ Barazani, O., Sathiyamaoorthy, P., Manandhar, U., Vulkan, R., Golan-Goldhirsh, A., Heavy metal accumulation by *Nicotiana glauca* Graham in a solid waste disposal site, *Chemosphere*, **54**, 867-872 (2004)。
- ・ Ranbgsayatorn, N., Upatham, E.S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., Lanza, G.R., Phytoremediation potential of *Spirulina (Arthrospire) platensis*: biosorption and toxicity studies of cadmium, *Environmental Pollution*, **119**, 45-53 (2002)。
- ・ Leslie, E.M., Deeley, R.G., Cole, S.P.C., Toxicological relevance of the multidrug resistance protein 1, MRP1(ABCC1) and related transporters, *Toxicology*, **167**, 3-23 (2001)。
- ・ Asai, K., Takagi, K., Shimokawa, M., Sue,

T., Hibi, A., Hiruta, T., Fujihiro, K., Nagasaka, H., Hisamatsu, S., Sonoki, S., Phytoaccumulation of coplanar PCBs by *Arabidopsis thaliana*, *Environmental Pollution*, **120**, 509-511 (2002)。

- ・ Coleman, J.O., Frova, C., Schroder, P., Tissut, M., Exploiting plant metabolism for the phytoremediation of persistent herbicides, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **9**, 18-28 (2002)。
- ・ Hamburg, H., Puvanesarajah, V., Burnett, T.J., Barnekow, D.E., Premkumar, N.D., Smith, G.A., Comparative degradation of [<sup>14</sup>C]-2,4-dichlorophenoxyacetic acid in wheat and potato after foliar application and in wheat, radish, lettuce, and apple after soil application, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 146-155 (2001)。

#### F. 研究業績

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

培養 12 日目

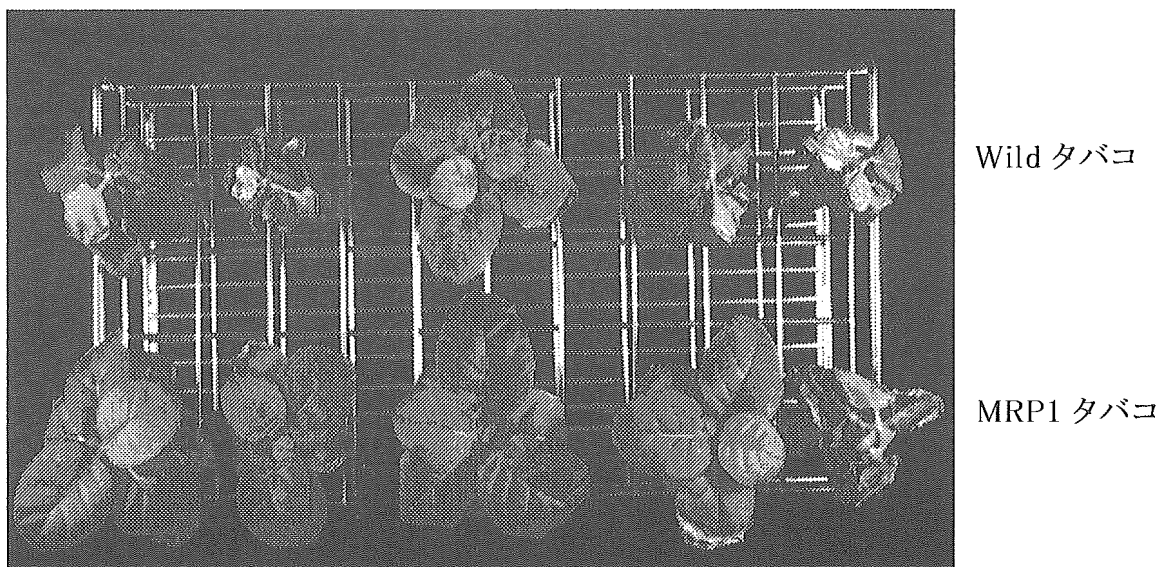


図1. Atrazine 暴露系におけるタバコ (Wild, MRP1) の抵抗性  
(培養 12 日目)

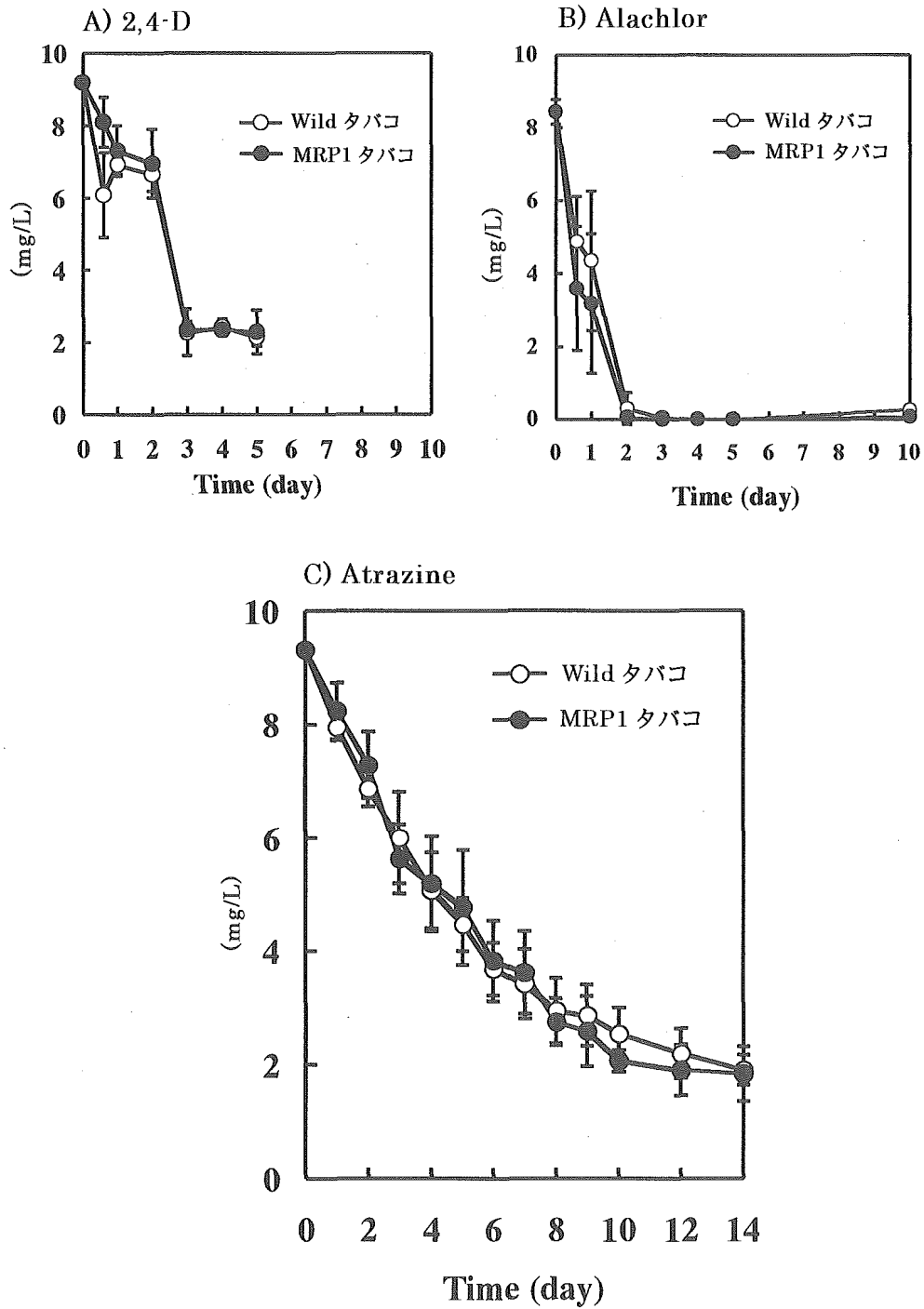


図2. タバコ (Wild, MRP1) の各有機塩素系農薬の吸収除去能 (n=3)  
 (A) 2,4-D, (B) Alachlor, (C) Atrazine



## 分担研究報告書

### 3. 食品中ダイオキシン類分析の迅速化・信頼性向上に関する研究

#### 3-1. PCB ELISAと Ahイムノアッセイによる市販魚中の ダイオキシン類のスクリーニング法

分担研究者 堤 智昭

(国立医薬品食品衛生研究所)

ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究

(3) 食品中ダイオキシン類分析の迅速化・信頼性向上に関する研究

(3-1) PCB ELISA と Ah イムノアッセイによる市販魚中のダイオキシン類のスクリーニング法

分担研究者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

市販のバイオアッセイキットである PCB ELISA ((株) エンバイオテック・ラボラトリーズ製) と Ah イムノアッセイ (パラセルシアン社製) を組み合わせた、市販魚中のダイオキシン類のスクリーニング法を開発した。魚試料を前処理分画後、モノオルト PCBs 分画を PCB ELISA により、ノンオルト PCBs 及び PCDD/Fs 分画を Ah イムノアッセイにより測定した。各分画における添加回収試験結果は良好 (90.4~114.7%) であり、本法により市販魚中のダイオキシン類が正確に定量できることが示唆された。また、同一の魚試料を用いた繰り返し測定試験の変動係数も許容範囲内の値であった (< 30%)。20 検体の魚試料に対して本法と従来法 (HRGC/HRMS 分析) の比較試験を行ったところ、両分画で従来法の毒性等量濃度に対し良好な相関係数 ( $r > 0.97$ ) が得られた。本法は従来法と比較し、数分の一の時間及び費用で市販魚中のダイオキシン類濃度の把握が可能であり、スクリーニング法として有用であると考えられる。

研究協力者

(株) 日新環境調査センター

芦枝和典

第一ファインケミカル (株)

坂田一登、谷岡洋平

(株) エンバイオテック・ラボラトリーズ

奥山 亮

(株) クボタ

小林康男

国立医薬品食品衛生研究所・食品部

佐々木久美子、天倉吉章

培養細胞を用いたレポータージーンアッセイが早くから行われている<sup>1), 2)</sup>。しかし、これらのレポータージーンアッセイを導入するにはライセンス契約が必要である場合があり、さらに細胞培養施設も必要であることから、汎用性は必ずしも高くない。近年、ダイオキシン類に対するモノクローナル抗体や、芳香族炭化水素 (Ah) レセプターを利用したバイオアッセイキットが市販されており、簡単に入手することが可能になった。そこで本研究では、市販のバイオアッセイキットである PCB ELISA と Ah イムノアッセイを組み合わせた、ダイオキシン類のスクリーニング法を検討した。

本研究で使用したバイオアッセイキットの特性を、表 1 に示した。魚試料を前処理分画後、モノオルト分画を PCB ELISA により、ノンオルト PCBs 及び PCDD/Fs 分画を Ah

A. 研究目的

我が国では、魚を介したダイオキシン類の摂取量が多いため、市販魚におけるダイオキシン類に対するスクリーニング法が開発できれば、食品衛生上有意義である。魚などの食品を対象にしたスクリーニング法としては、

イムノアッセイにより測定するスクリーニング法を検討した。なお、Ah イムノアッセイは Ah レセプターを介した毒性発現機構に基づきダイオキシン類を定量するため、モノオルト PCBs 分画の測定も当初は可能であると考えられた。しかし定量値が低く抑えられる結果が予備的な実験で得られたため、本研究ではモノオルト PCBs 分画の測定に PCB ELISA を適用した。

## B. 研究方法

### 1. 試薬

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））、22%及び 44%硫酸シリカゲルはダイオキシンクリーンアップ用（ジーエルサイエンス（株））、アルミナはダイオキシン分析用（ICN 社）を使用した。多層シリカゲルカラムはガラス製カラム（内径 15 mm、長さ 300 mm）に無水硫酸ナトリウム（2 g）、シリカゲル（0.9 g）、44%硫酸シリカゲル（4.5 g）、22%硫酸シリカゲル（6 g）、シリカゲル（0.9 g）、10%硝酸シリカゲル（3 g）、無水硫酸ナトリウム（6 g）を順次、充填し作製した。アルミナカラム及び硫酸シリカゲルカラムは既報<sup>3)</sup>に従い作製した。ダイオキシン類標準品は和光純薬工業（株）又は 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ものを、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、マイクロプレート分光光度計は Wallac 社

製 1420victor2 及び和光純薬工業（株）製スペクトラクラシックを、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計（HRGC/HRMS）は日本電子製（JMS-700）を使用した。

## 4. 前処理

均一化した試料（20 g）を採取し、2 mol/L 水酸化カリウム水溶液（100 ml）を加え、室温で一晩放置（約 16 時間）しアルカリ分解処理を行った。アルカリ分解液はメタノール（150 ml）を加えた後、ヘキサン（100 ml）で振とう抽出（10 分×3 回）を行った。抽出液は 2%（w/v）塩化ナトリウム水溶液（150 ml）で 2 回洗浄後、濃硫酸を加え硫酸処理を行った。硫酸層の着色が薄くなるまで数回繰り返し洗浄した後、2%塩化ナトリウム水溶液（50 ml）で 2 回洗浄し、さらにヘキサン洗浄水（50 ml）で 1 回洗浄した。その後、多層シリカゲルカラムに負荷し、ヘキサン（200 ml）により溶出した。溶出液は、さらにアルミナカラムに添加し、ヘキサン（150 ml）で洗浄後、2%（v/v）ジクロロメタン/ヘキサン（150 ml）により第 1 分画（モノオルト PCBs）を溶出、60%（v/v）ジクロロメタン/ヘキサン（200 ml）により第 2 分画（ノンオルト PCBs 及び PCDD/Fs）を溶出した。第 1 分画は濃縮後、DMSO（100  $\mu$ l）に置換し ELISA に供した。第 2 分画は、さらに硫酸シリカゲルカラムに添加し、ヘキサン（100 ml）により溶出した。溶出液は濃縮後、DMSO（20  $\mu$ l）に置換し、Ah イムノアッセイに供した。図 1 には本前処理法のフローチャートを示した。本前処理法におけるダイオキシン類異性体の回収率を HRGC/HRMS 分析で測定したところ、80% 以上であった（データ未掲載）。

## 5. PCB ELISA

PCB ELISA キット（（株）エンバイオテック・ラボトリーズ製）を購入し、添付の

マニュアルに従い測定した。

## 6. Ah イムノアッセイ

Ah イムノアッセイキット（パラセルシアン社製）を購入し、添付のマニュアルに従い測定した。

## 7. HRGC/HRMS 分析

既報<sup>2)</sup>に従い、ダイオキシン類を定量した。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 魚試料における定量下限値の設定

魚試料における定量下限値を設定するため、前処理操作における操作ブランクの有無を検討した。ブランク試料（魚試料を含まない試料）の前処理を異なった日に行い、得られた最終検液を PCB ELISA 及び Ah イムノアッセイにより測定した（表 2）。PCB ELISA では操作ブランクは認められず、前処理操作後の定量下限値は 125 pg/well となった。一方、Ah イムノアッセイでは若干の操作ブランク値が認められた。そのため、操作ブランク値の標準偏差の 8 倍に相当する 2.0 pg-DEQ/well を、前処理操作後の定量下限値とした。20 g の魚試料を使用した場合の試料における定量下限値は、PCB ELISA で 50 pg PCB/g、Ah イムノアッセイで 1.0 pg DEQ/g に相当した。

### 2. 希釈直線性試験

前処理操作後のマトリックスの影響を検討するため、希釈直線性試験を行った。ダイオキシン類汚染が認められる魚試料の前処理済み溶液を DMSO で段階希釈し、希釈測定時の定量値を初期濃度と比較した（図 2）。その結果、PCB ELISA では希釈操作による定量値の大きな変化は認められず、マトリックスの影響は小さいと考えられた。一方、

Ah イムノアッセイでは希釈操作により得られる定量値が 2 倍程度増加する場合があります、マトリックスの影響が疑われた。従って、Ah イムノアッセイにおいては、希釈系列をとり測定し、最大の定量値を試料の最終濃度とした。

### 3. 添加回収試験

前処理済みの抽出液に対し添加回収試験を行い、本法が前処理後のダイオキシン類を正確に定量できるか検討した。最終検液に既知量の PCB118 あるいは 2,3,7,8-TCDD を添加し、PCB ELISA あるいは Ah イムノアッセイにより測定した（表 3）。その結果、PCB ELISA では 92.0~114.7%、Ah イムノアッセイでは 90.4~99.4% の良好な回収率が得られた。従って、本法は前処理後の魚試料中のダイオキシン類を正確に定量できることが示唆された。

### 4. 再現性試験

本法のダイオキシン類測定の見直しについて検討するため、同一の魚試料の分析を複数回行った。前処理操作から測定までの一連の操作を異なった日に行った結果、PCB ELISA では 0.5~4.9% の変動係数、Ah イムノアッセイでは 19.9~23.4% の変動係数が得られた（図 3）。変動係数は許容範囲内の値であり、本法の繰り返し測定の精度は良好であった。

### 5. HRGC/HRMS 分析との比較試験

本法の測定値と従来法（HRGC/HRMS 分析）のダイオキシン毒性等量値を比較するため、市販魚試料（20 試料）について比較試験を行った。PCB ELISA の測定濃度と、従来法のモノオルト PCBs 毒性等量濃度の比較を行った結果、良好な相関係数（ $r = 0.99$ ）が得られた（図 4(a)）。なお、極端に高濃度であった 2 試料を除いた場合も相関係数