

は良好であった ($r = 0.98$)。また、Ah イムノアッセイの測定濃度と、ノンオルト PCBs 及び PCDD/Fs の毒性等量濃度を比較した結果も、良好な相関係数 ($r = 0.97$) が得られた (図 4b))。従って、本法は市販魚中のダイオキシン類毒性等量濃度のスクリーニング法として有用であると考えられる。

魚試料から得られた前処理済み検液には種々の化合物が含まれる。そこで、比較試験検体における PCB ELISA の特異性について考察するため、ELISA の測定濃度と HRGC/HRMS の PCB 118 濃度の比較を行った (図 5)。直線回帰を行った結果、傾きが 1 に近い直線が得られ、相関係数も良好であった ($r = 0.98$)。従って、ELISA の定量値は概ね PCB 118 に対する反応性を反映していると考えられた。回帰直線の傾きが 1 より若干大きくなる理由としては、本 ELISA が PCB 118 以外の PCBs 異性体に交差反応性を示すことが考えられる。本 ELISA は PCB 31、PCB 66、PCB 70、PCB 77 及び PCB 156 に対して若干の交差反応性 (5-20% of PCB 118) を示す⁴⁾。本研究では Co-PCBs に分類されない PCB 31、PCB 66 及び PCB 70 の HRGC/HRMS 分析は行っていないため、これらの異性体の試料中濃度は不明である。しかし、仮にこれらの異性体が最終検液に多量に含まれた場合、ELISA の定量値に加算されることになる。

また、比較試験検体における Ah イムノアッセイの特異性についても考察した。各比較検体について、HRGC/HRMS 分析で得られたノンオルト PCBs 及び PCDD/Fs 異性体 (WHO-TEF を有する 21 異性体) の濃度に、対応する Ah イムノアッセイの公差反応値⁵⁾ を掛けて合計したダイオキシン類予測値を算出した。これらの予測値を Ah イムノアッセイの定量値と比較した結果 (図 6)、傾きがおおよそ 1 の回帰直線が得られ、相関係数も良好であった ($r = 0.95$)。従って、

Ah イムノアッセイの定量値は概ね WHO-TEF が定められているダイオキシン類異性体の反応性を反映していると考えられた。回帰直線の傾きが 1 より若干大きくなる理由としては、Ah レセプター結合能を有するダイオキシン様化合物の共存が示唆される。このような化合物として、塩素・臭素化ダイオキシン類や臭素化ダイオキシン類などが考えられる⁶⁾。

6. スクリーニング法としての利用

比較試験の結果を使用して、毒性等量濃度に対するスクリーニング法としての本法の利用について検討した。図 7 は比較試験で得られた毒性等量濃度との相関関係を示しており、図中の点線は回帰直線の 95% 予測区間を示している。例えば、モノオルト PCBs 毒性等量濃度が 0.5 pg-TEQ/g の検体は、PCB ELISA で 2,300~3,800 pg/g に相当することが予測される (図 7(a))。また、ノンオルト PCBs 及び PCDD/Fs 毒性等量濃度が 3 pg-TEQ/g の検体は Ah イムノアッセイで 6.7~13 pg-DEQ/g に相当することが予測される (図 7(b))。従って、これらの予測範囲の下限値をバイオアッセイにおけるカットオフ値に設定することで、数 pg-TEQ/g 以上に汚染された魚試料のスクリーニングに利用することが可能であると考えられる。今後はより多数の比較検体の測定を行い、本法の実用性を高めていく必要がある。

D. 結論

- 1) PCB ELISA と Ah イムノアッセイの組み合わせにより、市販魚中のダイオキシン類を良好に測定することが可能であった。
- 2) 従来法 (HRGC/HRMS 分析) と良い相関が得られたことから、魚中のダイオキシン類の毒性等量濃度を推測することが可能であると考えられる。

3) 従来法と比較すると、安価で迅速に定量結果が得られることから、スクリーニング法として有用である。

E. 参考文献

1) Besselink H, Leonards P, Felzel E, Brouwer B. Analysis of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDD), dibenzofurans (PCDF) and biphenyls (PCB) in fish using DR-CALUX and GC/MS: A comparison. *Organohalogen Compounds*, 58 (2002) 413-415.

2) 平成 13 年度厚生科学研究費補助金研究報告書「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」(分担報告書 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)

3) 平成 14 年度厚生労働科学研究費補助金研究報告書「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」(分担報告書 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))

4) 平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金研究報告書「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」(分担報告書 3-1 ELISA による市販魚中のコプラナー PCBs 及び総 PCBs のスクリーニング法の開発)

5) Kobayashi Y, Lundquist A, Uechi T, Ashieda K, Sasaki K, Hughes B, Kaise T. Dioxin screening in environmental samples using the Ah-immunoassay. *Organohalogen Compounds*, 58 (2002) 337-340.

6) Behnisch PA, Hosoe K, Sakai S. Brominated dioxin-like compounds: in vitro assessment in comparison to classical dioxin-like compounds and other polyaromatic compounds.

Environmental International, 29 (2003) 861-877.

F. 研究業績

1. 論文発表

1) Tsutsumi T, Amakura Y, Ashieda K, Okuyama A, Tanioka Y, Sakata K, Kobayashi Y, Sasaki K, Maitani T. Screening for dioxins in retail fish using a combination of a PCB ELISA and an aryl hydrocarbon receptor immunoassay (Ah-immunoassay). *Organohalogen Compounds*, 67 (2005) 42-45.

2. 学会発表

1) 堤 智昭*1、天倉吉章*1、芦枝和典*2、奥山 亮*3、坂田一登*4、谷岡洋平*4、小林康男*5、佐々木久美子*1、米谷民雄*1: Ah イムノアッセイと PCB ELISA による市販魚中ダイオキシン類のスクリーニング法. 第 14 回環境化学討論会(2005.6)

*1 国立医薬品食品衛生研究所

*2(株)日新環境調査センター

*3(株)エンバイオテック・ラボラトリーズ

*4 第一ファインケミカル(株)

*5 (株)クボタ

表1 PCB ELSIAとAhイムノアッセイの性能特性

	PCB ELISA	Ahイムノアッセイ
測定原理	モノクローナル抗体を使用した競合ELISA	芳香族炭化水素レセプターを介した毒性発現機構に基づくイムノアッセイ
特異性	PCB 118に高い反応性	ダイオキシン様化合物
定量範囲	125 - 3,100 pg/well for PCB 118	1 - 64 pg/well for 2,3,7,8-TCDD
処理検体数	40検体/プレート	16検体/プレート
測定時間	約1.5時間	約6時間

表2 魚試料における定量下限値の設定

	ブランクテスト (n = 4)	前処理後の 定量下限値	魚試料の 定量下限値 ²⁾
PCB ELISA	- ¹⁾	125 pg/well	50 pg/g
Ahイムノアッセイ	1.5 ± 0.25 pg-DEQ/well	2.0 pg-DEQ/well	1.0 pg-DEQ/g

1) 定量下限値(125 pg/well)以下

2) 20 gの魚試料を用いた場合

表3 前処理済みの魚抽出液に対する添加回収試験

(a) PCB ELISA (モノオルトPCBs分画)

サンプル	添加PCB 118濃度 (pg/well)	添加回収率 (%)
スズキ	190	114.7
	500	92.0
	1,250	96.2
サバ・マグロ混合	190	101.7
	500	103.6
	1,250	93.3

(b) Ahイムノアッセイ (ノンオルトPCBs+PCDD/Fs分画)

サンプル	添加TCDD濃度 (pg/well)	添加回収率 (%)
サケ・ブリ混合	10	90.4
スズキ・ブリ混合	10	99.4

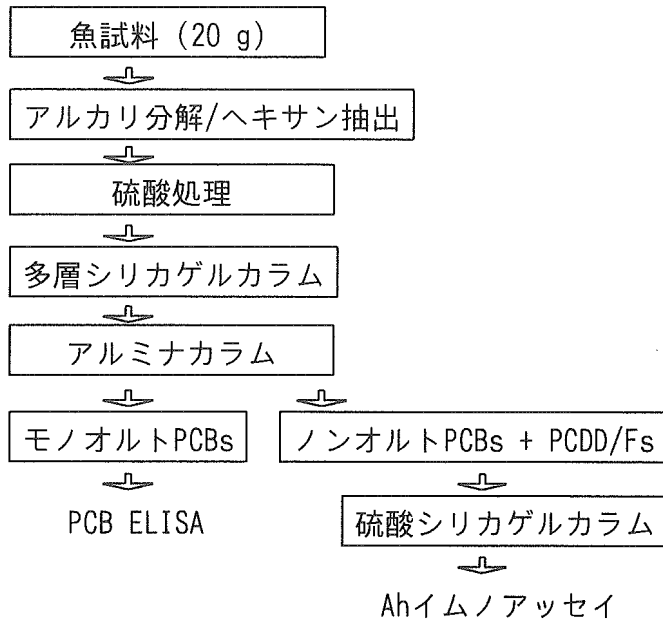


図1 前処理方法のフローチャート

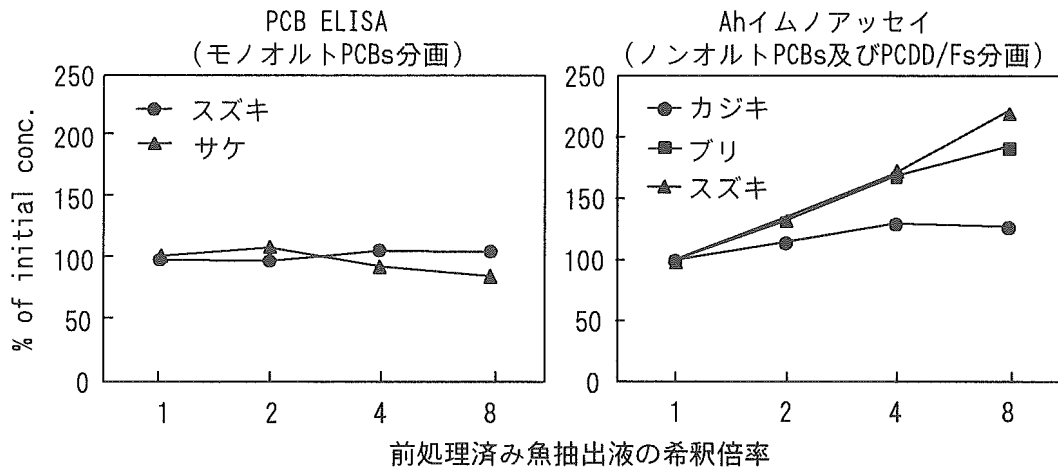


図2 希釈直線性試験

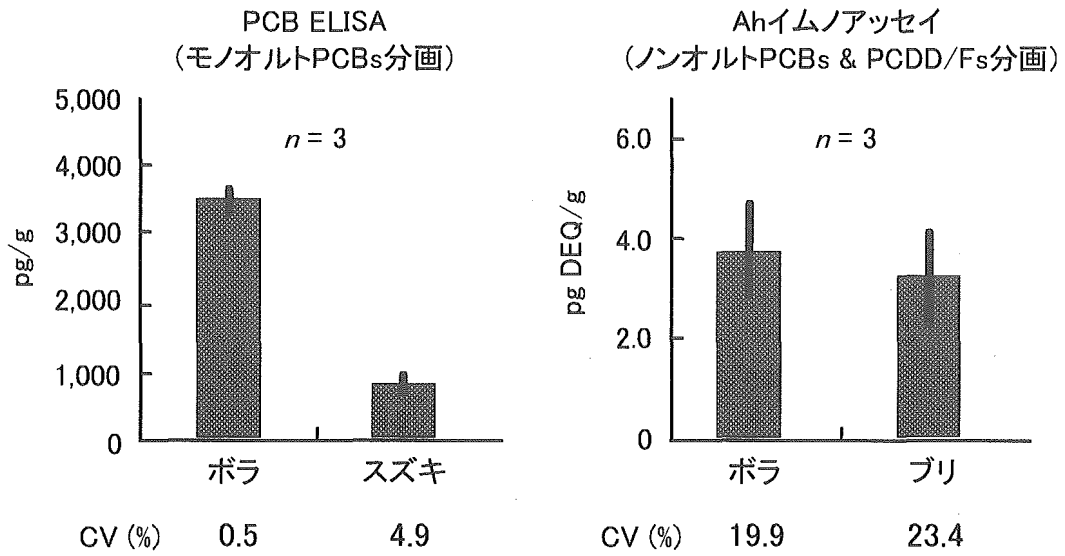


図3 魚試料の繰り返し測定

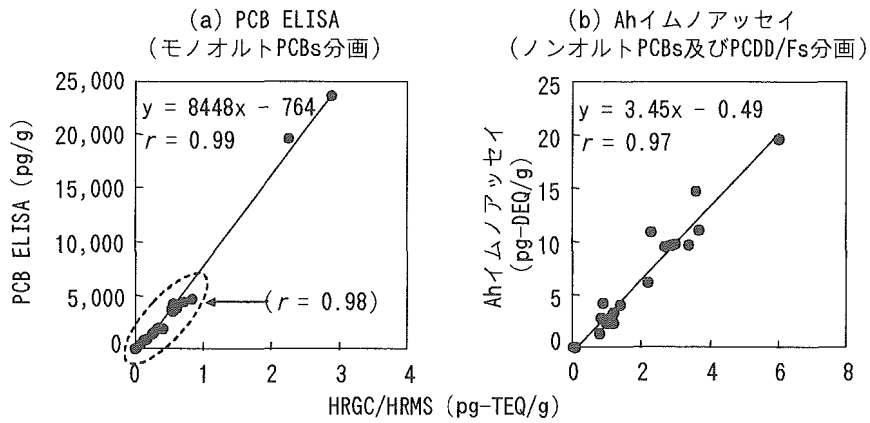


図4 HRGC/HRMSによる毒性等量濃度との比較 (n=20)

市販魚(カジキ、サケ、サバ、スズキ、ブリ、マグロなど)を比較検体として測定した。

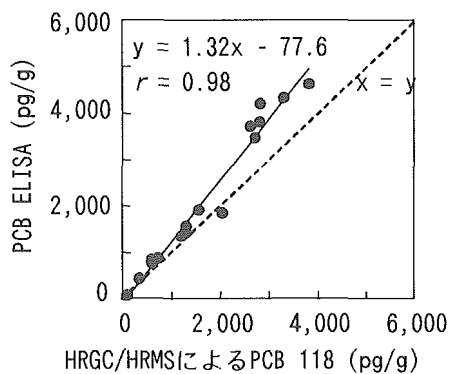


図5 ELISAとPCB 118濃度の比較

高濃度汚染試料(2試料)は除いた。

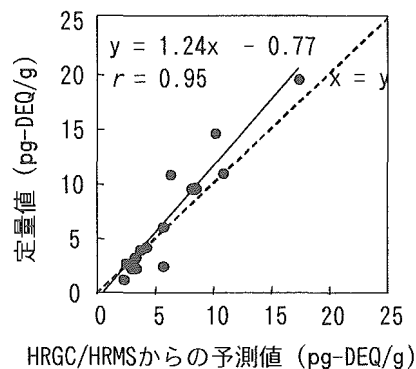


図6 Ahイムノアッセイにおける
定量値と予測値の比較

定量下限以下の試料(2試料)は除いた。

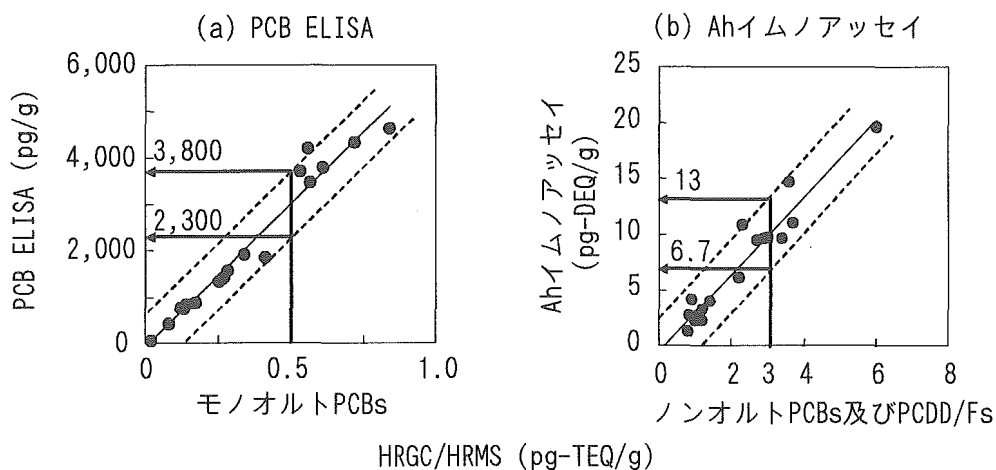


図7 比較試験結果を用いた毒性等量濃度の予測

グラフの点線は回帰直線の95%予測区間を示す。PCB ELISAでは高濃度の2試料、Ahイムノアッセイでは定量下限以下の2試料を除いた。

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

3-2. 食品中ダイオキシン類分析における高速溶媒抽出法の 応用に関する研究

分担研究者 堤 智昭

(国立医薬品食品衛生研究所)

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）
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
(3-2)食品中ダイオキシン類分析における高速溶媒抽出法の応用に関する研究
－動物性食品の迅速抽出への応用－

分担研究者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

食品中のダイオキシン類分析方法の迅速化を主たる目的として、高速溶媒抽出法（以下 ASE）について検討を行った。平成 17 年度は動物性食品試料（主に乳製品試料）を対象に検討した。粉末ミルク試料を用いて ASE の使用条件を検討したところ、抽出溶媒をアセトン-*n*-ヘキサン（1:1）混液とし、抽出温度を 150℃に設定したときに高い抽出効率が得られた。マグロ可食部の均一試料を ASE と従来法（アルカリ分解・溶媒抽出法）を用いてダイオキシン類を抽出し、定量値を比較した。その結果、ASE におけるダイオキシン類の定量値の再現性は良好で、各異性体の定量値は ASE と従来法とでほぼ同等であった。さらに動物性食品（18 試料）における ASE 使用時のクリーンアップスパイク（29 異性体）の回収率は 41～108%であり、「食品中のダイオキシン類及びコプラナー PCB 測定方法暫定ガイドライン」の要求事項（40～120%）に適合していた。ASE を使用した場合、短時間（約 30 分）でダイオキシン類を抽出でき、抽出に用いる溶媒量を少量化（約 120 mL）できた。以上の結果から、ASE は動物性食品試料におけるダイオキシン類の迅速かつ精密な抽出方法として使用することが可能と考えられた。

研究協力者

福岡県保健環境研究所

堀 就英、安武大輔、飛石和大、中川礼子、
飯田隆雄

A. 研究目的

ダイオキシン類の耐容一日摂取量、すなわちヒトに対する長期間曝露の許容量は、体重 1 kg あたり 4 pg (pg (ピコグラム) は一兆分の一グラム) まで、という非常に僅かな量である。食品汚染に関する分析調査においては、この「超微量」を高い精度で計測することが要求される。

現在の食品中ダイオキシン類分析の問題点のひとつとして、分析結果を得るまでに長時間を要することが挙げられる。とりわけ抽出操作は煩雑で一度に処理できる試料の数は極めて限られたものとなっている。食品中のダイオキシン類分析が迅速に行えるようになれ

ば、人体曝露に関する研究の進展に大きく寄与すると考えられる。

迅速な分析方法の開発は、近年重要性を増している「健康危機管理」の観点からも非常に重要である。食品の汚染問題が発生した場合、行政対応には迅速性が求められ、農水産物の安全性を速やかに確認することが必要である。したがって高精度かつ短期間に食品中のダイオキシン類を分析できる方法を確立することが強く望まれる。

我が国における食品中ダイオキシン類分析方法の標準は「食品中のダイオキシン類及びコプラナー PCB 測定方法暫定ガイドライン」¹⁾（以下ガイドライン）である。ガイドラインでは、魚介類や肉類等の試験方法として「アルカリ分解・溶媒抽出」（以下アルカリ分解）や「脂肪抽出・アルカリ分解」が記載されている。ガイドラインは試験法を限定しておらず、ガイドラインの要件を満たすことが実証

され分析精度が十分に確保されれば、記載の手法に代わるものを使用することができる。従来法のアルカリ分解の難点として、①分解操作に長時間を要する（1 検体あたり 2 時間～一夜）、②振とう抽出に使用するガラス器具の容量が大きく取り扱いが不便である、③強アルカリ性溶液を取り扱うため操作に危険を伴う、ことが挙げられる。また、アルカリ分解の過程でダイオキシン類の一部が分解することが指摘されている²⁾。

本分担研究では、食品中ダイオキシン類の分析操作、特に抽出操作に着目し、ダイオキシン類の分析方法の効率化・迅速化について検討した。今回、新規抽出方法として採り上げた「高速溶媒抽出法」(以下 ASE) は既に米国公定法 EPA メソッド 3545 に PFE (Pressurized Fluid Extraction) として環境中の多環芳香族化合物等の抽出方法に採用されている。主に土壌、底質等の迅速抽出方法として応用が試みられている^{3,4)}。本抽出法の利点はアルカリ分解と比較して短時間で溶媒使用量も少なく、自動化が出来るという効率性にある。ASE の食品中ダイオキシン類分析への適用例は国内外で僅かであり^{5,6)}、その適用性を精査した例は殆ど見当たらない。平成 16 年度に実施した本研究において、ASE を使用すると植物性食品に含まれるダイオキシン類を迅速かつ高効率に抽出できることを示した。そこで今年度は動物性食品を対象に、ダイオキシン類の抽出方法として ASE が使用できるか検討した。

B. 研究方法

1. 試料

抽出条件の検討に用いた粉末ミルクは市販品を購入して使用した。従来法との比較試験に用いた魚(マグロ)は可食部約 330 g を切身で購入した。フードプロセッサーで均一化した後、凍結乾燥処理を行い、乾燥した試料を再度均一化して分析試料とした。また、クリーンアップスパイクの添加回収率(以下 CS 回収率)の測定に用いた種々の動物性食品は福岡県内の小売店で購入し、必要に応じてフ

ードプロセッサーで均一化して試料とした。なお CS 回収率の測定では試料の凍結乾燥処理を行わなかった。

2. 試薬及び測定装置

水酸化カリウム、ジエチルエーテルは和光純薬(株)製の特級を、石油エーテルは和光純薬製の残留農薬試験用を、エタノールは関東化学(株)製ダイオキシン類分析用を用いた。その他の試薬、測定装置については平成 16 年度の本分担研究報告書⁷⁾と同様のものを使用した。

3. 抽出及び精製操作

ASE には DIONEX 社製の高速溶媒抽出装置 ASE-300 を用いた。抽出操作は平成 16 年度の本分担研究報告書⁷⁾と同様に行った。アルカリ分解はガイドラインに従った。試料の抽出及び精製操作を図 1 に示した。

粉末ミルクを用いた ASE 抽出条件の検討においては、ASE で得られた抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、溶媒を留去して乾燥させ、残留物の重量を測定した。得られた残留物を約 10 mL のエタノールに溶解し、残留物重量 2 g に対して 40 mL の割合で 1 N 水酸化カリウム-エタノール溶液を加えて混和し、一夜放置した。得られた溶液を *n*-ヘキサンで振とう抽出し、以降の精製操作に供した。

マグロ試料を用いた比較試験及び種々の動物性食品の分析では、ASE 後のアルカリ分解操作を省略し、抽出液を濃縮乾固後、残留物を *n*-ヘキサンに溶解して硫酸処理し、以降の精製操作に供した。

4. ダイオキシン類測定

ダイオキシン類の測定は既報に従った⁷⁾。

C. 研究結果及び考察

1. ASE における抽出条件の検討

ASE における抽出温度と抽出溶媒について検討を行った。試料は粉末ミルク 20 g を対象とし、抽出温度は 100 °C と 150 °C、抽出溶媒は *n*-ヘキサン及びアセトンと *n*-ヘキサンを等

量混合したもの（以下アセトン・ヘキサン）で抽出効率を比較した。

動物性食品中のダイオキシン類は主に脂肪成分に含まれ、脂肪抽出量の多少は抽出効率の目安となると考えられた。表 1 は各条件で調製した抽出液を乾燥、濃縮乾固して得た残留物の量を比較したものである（残留物はその大半が脂肪成分から成る「粗脂肪」である）。抽出される粗脂肪量は抽出温度が高くなるほど（100 → 150 °C）、また抽出溶媒にアセトン含有したほうが多くなる傾向がみとめられた。また抽出条件「150 °C、アセトン・ヘキサン」における粗脂肪含量の平均値は 26 % であり、常法の振とう抽出で求めた脂肪含量（平均で 24 %）とよく一致していた。

表 2 は粉末ミルク中のダイオキシン類濃度を全重量あたり（pg/g whole basis）で算出して比較したものである。表中カッコ内に示した数値は、検出限界未満でありながら当該ピークを認めた異性体について、濃度を暫定的に算出した。粗脂肪量の結果と同様、抽出温度が高くかつ抽出溶媒にアセトン含有させるほうが検出率が高くなり、定量値の高い傾向がみとめられた。一方、各抽出条件における CS 回収率はいずれも良好で、条件間で顕著な差はみとめられなかった（データ未掲載）。以上のことから、抽出条件間の定量値の差異は試料中のダイオキシン類異性体に対する抽出効率の違いに基づくものと考えられた。

表 3 は表 2 の定量結果を抽出物の重量あたり（粗脂肪重量あたり、pg/g lipid basis）に換算した結果である。抽出温度を 150 °C とした場合の条件間（*n*-ヘキサン及びアセトン・ヘキサン）で比較すると、粗脂肪重量あたりに換算することで PCDD/Fs はほぼ同様の定量値となったが、Co-PCBs においては抽出溶媒に *n*-ヘキサンを用いたほうが定量値が若干、高くなる傾向があった。これは、抽出溶媒に *n*-ヘキサンを用いたとき、脂肪成分の抽出が不十分であったため定量値が高めになったものと考えられる。また、この結果は抽出時の Co-PCBs と脂肪成分の挙動が必ずしも完全に一致しない可能性を示唆している。

以上の結果から、粗脂肪の抽出率が高く、その含量（%）が従来法と良く一致し、かつ試料中のダイオキシン類に対して高い抽出効率を示した「抽出温度：150 °C、抽出溶媒：アセトン・ヘキサン」の条件を用い、以後の検討を行うこととした。

現在のところ、我が国において公表されている動物性食品中のダイオキシン類濃度は、全重量あたりで表示されているものが殆どである。今後はダイオキシン類汚染度の相互比較のために脂肪重量あたりの濃度表示を用いることも予想される。ガイドラインは魚介類や肉類、乳類のダイオキシン類分析時に試料中の脂肪含量を併せて測定することとしている。また EU で乳類等に設定されているダイオキシン類の残留基準値には脂肪重量あたりの濃度が適用されている。

我が国では魚介類や肉類等の動物性食品の分析に「アルカリ分解・溶媒抽出」または「脂肪抽出・アルカリ分解」が用いられる。前者では脂肪含量を測定するためにダイオキシン類分析とは別に試料を量り取って調べる必要がある。表 1 の結果から、ASE を使用した場合の粗脂肪量は従来の脂肪抽出法によるものと良く一致した。したがって ASE では、ガイドライン記載の「脂肪抽出・アルカリ分解」と同様に、得られた抽出物の重量をそのまま脂肪重量として濃度換算に用いることができるので、効率的に分析を実施することができる。

2. ASE とアルカリ分解の比較ーバリデーションー

均一マグロ試料を用いた ASE と従来法（アルカリ分解）の比較試験結果を表 4 に示す。

ダイオキシン類定量値の相対標準偏差（RSD）は ASE で 4 ~ 19 % の範囲であり、アルカリ分解では 1 ~ 27 % とほぼ同等であった。ASE に対するアルカリ分解の平均濃度（pg/g whole basis）の比は OCDD の 2.0 を除いて 0.92 ~ 1.4 の範囲であり、よく一致していた。OCDD の定量値が従来法に対して特に高値を示したのは、平成 16 年度の本分担研究

において乾海苔試料を用いて行った ASE のバリデーション試験結果と同様、ASE の抽出効率の高さが反映されたものと考えられる。

ASE を使用すると従来法に比べて抽出時間が著しく短縮（長い場合で約 20 時間を要していたものが約 30 分に）され、抽出に用いる溶媒量を少量化できる（約 300 mL → 約 120 mL）ため、分析操作の迅速性が向上し、分析経費の削減、試験廃液量の削減に効果的である。また、ASE ではアルカリ分解操作を省略して抽出を行うことが可能であった。従って、本法ではアルカリによるダイオキシン類の分解を懸念する必要がなく、抽出時の危険性が軽減され有害なアルカリ廃液が生じない。ただしアルカリ分解を行う場合に比べ、精製過程の硫酸処理時に硫酸層の着色度が増大し、精製操作がやや煩雑になる一面もあった。

3. 種々の動物性食品における CS 回収率

乳製品を中心とした動物性食品（6 種 18 試料）を ASE を用いて抽出し、CS 回収率（29 異性体）を求めた。その結果、回収率は 41 ~ 108% であり、いずれもガイドラインの要求事項である 40 ~ 120 % の範囲内であった（表 5）。

食品試料は多種多様であり、成分や組成も試料毎に異なる。今後様々な動物性食品について実証例を重ねる余地が残されているが、ASE は様々な食品試料に対してフレキシブルに使用できる抽出方法として有望である。我が国において食事経路のダイオキシン類の主たる曝露源は魚及び肉類等の動物性食品であり、モニタリング調査で最も重点がおかれる食品種である。ASE を使用すると短期間に多くの試料を抽出することができる。このことは調査例数の拡大に繋がり、動物性食品の汚染実態調査の進展に寄与するものと考えられる。本報告における抽出の最適条件は平成 16 年度の本研究報告書⁷⁾で示した植物性食品の抽出条件と同一である。ガイドラインでは食品試料の性状・性質に応じて複数の抽出方法が提示されているが、ASE を使用し、分析対象試料が植物性・動物性の種別に関わらず同

じ抽出条件を適用すれば、実験室における作業効率性の著しい向上が見込まれる。さらに、ガイドラインに牛乳の分析法として記載されている「脂肪抽出・アルカリ分解法」では、分液漏斗を使用する抽出操作中にエマルジョンが生成しやすく、エマルジョンを解消するために煩雑な操作を余儀なくされ、定量データの再現性と回収率を悪化させる要因となっていた。ASE では抽出過程でエマルジョンは殆ど生成しないため、作業効率や再現性の向上に有利である。

D. 結論

市販の粉末ミルクを用いて ASE の抽出条件を検討したところ、抽出温度を 150 °C、抽出溶媒をアセトン・ヘキサンに設定したとき、高い抽出効率を得られた。

本抽出条件を用いてマグロ試料を抽出し、従来法（アルカリ分解）と比較したところ、両者のダイオキシン類定量値はよく一致した。

さらに乳製品を中心とした動物性食品に対して ASE を使用した結果、良好な CS 回収率を得られ、ガイドラインの要求事項（40 ~ 120 %）の範囲内であった。以上の結果から、ASE は動物性食品に含まれるダイオキシン類を抽出する方法として使用可能であると考えられた。

E. 参考文献

- 1) 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
- 2) 高菅卓三、青野さや香、秋月哲也、中川貴之、渡邊清彦、井上毅：アルカリ分解法を用いた PCB、ダイオキシン分析の課題。第 10 回環境化学討論会講演要旨集（2001）28-29.
- 3) Richter, B.E., Ezzell, J.L., Knowles, D.E., Hoefler, F., Mattulat, A.K.R., Scheutwinkel, M., Waddell, D.S., Gobran, T., Khurana, V.: Extraction of polychlorinated *p*-dioxins and polychlorinated dibenzofurans from environmental samples using accelerated solvent extraction (ASE). *Chemosphere*, **34** (1997) 975-987.

4) 岸田真男、山本仁史、服部幸和：高速溶媒抽出装置を用いた底質中のダイオキシン類の分析。第12回環境化学討論会講演要旨集(2003) 602-603.

5) Hashimoto, S., Shibata, Y., Tanaka, H., Yatsu, A., Morita, M.: PCDDs and PCDFs contamination in the northern Pacific area reflected on squid liver tissues. *Organohalogen compounds*, **41** (1999) 413-416.

6) 氏家愛子、長船達也、佐藤信俊：高速溶媒抽出装置を用いたPCB抽出法の検討。第41回全国衛生化学技術協議会年会講演集(2004) 74-75.

7) 平成16年度厚生労働科学研究補助金研究報告書：「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(3-2) 食品中ダイオキシン類分析における高速溶媒抽出法の応用に関する研究」

F. 研究業績

1. 論文発表

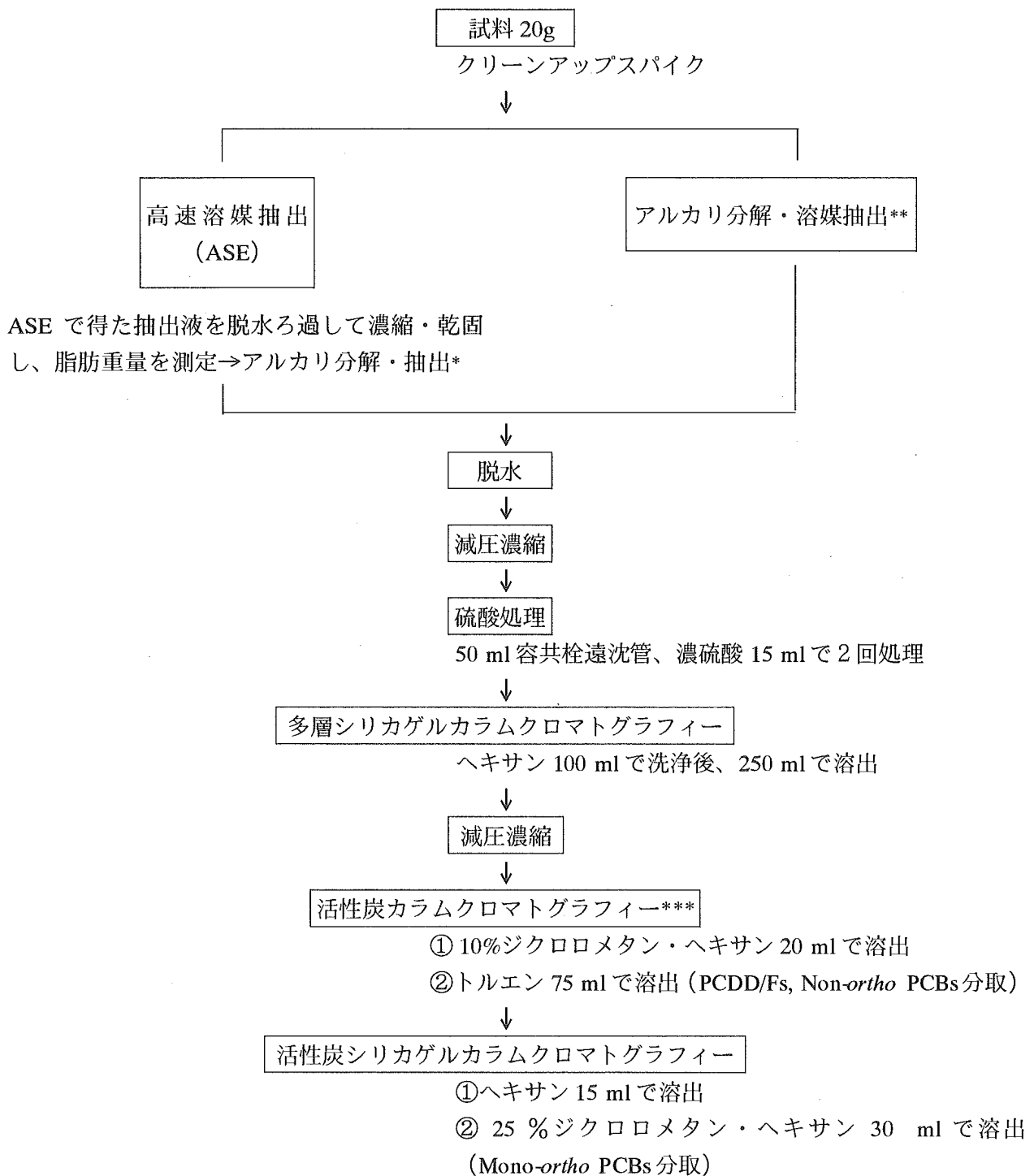
なし

2. 学会発表

堀 就英^{*1}、飯田隆雄^{*1}、中川礼子^{*1}、芦塚由紀^{*1}、飛石和大^{*1}、堤 智昭^{*2}、佐々木久美子^{*2}：食品中ダイオキシン類分析における高速溶媒抽出の適用について。第42回全国衛生化学技術協議会年会(2005.11)

^{*1} 福岡県保健環境研究所

^{*2} 国立医薬品食品衛生研究所



*マクロ試料を用いたバリデーション試験及び種々の動物性食品の分析では、ASE 抽出液に対するアルカリ分解操作を省略した。

**アルカリ分解・溶媒抽出では 2%塩化ナトリウム溶液による抽出液の洗浄操作を行う。

***活性炭を無水硫酸ナトリウムに対して 0.1%(w/w)になるよう混合・均一化したものを用いる。

図1 ダイオキシン類の抽出及び精製フロー

表1 各種抽出条件における粉末ミルクからの抽出脂肪量の比較

	抽出温度 (°C)	抽出溶媒	試行	粉末ミルク 秤取量(g)	抽出脂肪 重量(g)	抽出脂肪 含量(%)
高速溶媒抽出	100	ヘキサン	1	20.01	0.20	1.0
			2	20.34	0.31	1.5
			3	20.00	0.30	1.5
		アセトン・ヘキサン	1	20.21	0.69	3.4
			2	20.08	0.93	4.7
			3	20.01	1.12	5.6
	150	ヘキサン	1	20.16	3.02	15.0
			2	20.33	3.22	15.8
			3	20.27	3.13	15.5
		アセトン・ヘキサン	1	20.24	5.30	26.2
			2	20.27	5.24	25.8
			3	20.26	5.30	26.1
振とう抽出*	ジエチルエーテル・石油エーテル	1	5.06	1.24	24.4	
		2	4.96	1.19	23.9	
		3	4.96	1.16	23.3	

*ガイドラインに記載されている脂肪抽出操作に従って脂肪成分の抽出を行った。

表2 粉末ミルク試料を用いた高速溶媒抽出の抽出条件の検討結果*(単位: pg/g whole basis)

抽出温度(°C)		100°C			100°C			150°C			150°C		
抽出溶媒		ヘキサン			アセトン・ヘキサン			ヘキサン			アセトン・ヘキサン		
化合物	検出限界 (pg/g)	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目
2,3,7,8-TeCDD	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8-PeCDD	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.021	ND	0.020	(0.011)
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.026	0.034	0.035	0.046	0.035	0.026
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.013	(0.018)	(0.018)	0.020
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.02	ND	ND	ND	(0.064)	(0.061)	0.13	0.25	0.19	0.21	0.34	0.38	0.31
OCDD	0.05	0.19	0.25	0.22	0.51	0.62	0.99	2.1	2.2	2.2	3.3	3.6	2.9
2,3,7,8-TeCDF	0.01	ND	ND	ND	0.019	0.016	0.017	0.055	0.055	0.049	0.082	0.080	0.067
1,2,3,7,8-PeCDF	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.037	0.021	0.030	ND	ND	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.043	0.035	0.036	ND	ND	0.024
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.02	ND	ND	ND	ND	(0.0091)	(0.019)	0.031	0.026	0.029	0.051	0.064	0.036
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	(0.012)	0.021	ND	(0.012)	0.029	0.030	0.027
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.014
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	(0.0080)	0.022	(0.013)	(0.016)	0.028	0.032	0.020
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.02	ND	ND	ND	0.024	0.020	(0.019)	0.056	0.054	0.085	0.10	0.10	0.11
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	(0.010)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	0.05	ND	ND	ND	(0.024)	(0.014)	0.056	0.14	0.15	0.16	0.25	0.19	0.20
3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.1	(0.075)	(0.096)	(0.087)	(0.099)	(0.064)	0.10	0.13	0.11	0.15	0.14	0.15	0.22
3,4,4',5'-TeCB(#81)	0.1	ND	ND	ND	(0.015)	ND	ND	(0.012)	ND	(0.011)	(0.013)	ND	(0.019)
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.1	ND	ND	ND	(0.031)	(0.022)	ND	(0.082)	(0.099)	0.11	0.13	0.11	0.11
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.1	ND	ND	ND	ND	(0.0083)	ND	(0.057)	(0.048)	(0.052)	(0.061)	(0.074)	(0.063)
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	1	(0.23)	(0.31)	(0.32)	(0.53)	(0.55)	(0.88)	1.7	1.6	1.8	2.1	2.1	2.2
2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	1	(0.028)	(0.029)	(0.031)	(0.046)	(0.044)	(0.075)	(0.18)	(0.18)	(0.18)	(0.22)	(0.26)	(0.23)
2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	1	(0.81)	1.1	1.2	1.8	2.0	3.1	6.9	6.5	7.1	8.9	9.9	9.3
2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	1	(0.019)	(0.032)	(0.025)	(0.042)	(0.039)	(0.066)	(0.12)	(0.087)	(0.092)	(0.13)	(0.13)	(0.17)
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	1	(0.12)	(0.11)	(0.16)	(0.33)	(0.38)	(0.56)	1.4	1.4	1.4	2.0	2.2	1.9
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	1	(0.033)	(0.045)	(0.036)	(0.095)	(0.11)	(0.16)	(0.39)	(0.36)	(0.40)	(0.50)	(0.51)	(0.47)
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	1	(0.054)	(0.070)	(0.064)	(0.12)	(0.14)	(0.21)	(0.50)	(0.48)	(0.47)	(0.72)	(0.75)	(0.73)
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	1	(0.022)	(0.030)	(0.027)	(0.050)	(0.056)	(0.11)	(0.22)	(0.20)	(0.20)	(0.26)	(0.37)	(0.28)

*カッコ内の数値は検出限界未満の濃度を暫定値として示した。

表3 粉末ミルク試料を用いた高速溶媒抽出の抽出条件の検討結果 (単位: pg/g lipid basis)

抽出温度(°C)	100°C			100°C			150°C			150°C		
	ヘキサン			アセトン・ヘキサン			ヘキサン			アセトン・ヘキサン		
抽出溶媒	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目
化合物	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目	1回目	2回目	3回目
2,3,7,8-TeCDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,7,8-PeCDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,7,8-HxCDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.13	ND	0.076	0.042
1,2,3,6,7,8-HxCDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.17	0.22	0.22	0.18	0.13	0.10
1,2,3,7,8,9-HxCDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.085	0.064	0.071	0.076
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	ND	ND	ND	1.9	1.3	2.2	1.7	1.2	1.4	1.3	1.5	1.2
OCDD	19	16	14	15	13	18	14	14	14	13	14	11
2,3,7,8-TeCDF	ND	ND	ND	0.54	0.34	0.31	0.36	0.35	0.32	0.31	0.31	0.26
1,2,3,7,8-PeCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.24	0.13	0.19	ND	ND	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.29	0.22	0.23	ND	ND	0.093
1,2,3,4,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	0.20	0.33	0.20	0.17	0.19	0.20	0.25	0.14
1,2,3,6,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	0.22	0.14	ND	0.079	0.11	0.12	0.10
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.052
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	0.14	0.15	0.085	0.10	0.11	0.12	0.078
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	ND	ND	ND	0.70	0.43	0.34	0.37	0.34	0.55	0.40	0.39	0.41
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND	ND	ND	ND	0.19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	ND	ND	ND	0.69	0.29	1.0	0.96	0.98	1.1	0.95	0.75	0.75
3,3',4,4'-TeCB(#77)	7.7	6.4	5.7	2.9	1.4	1.8	0.88	0.67	0.97	0.53	0.58	0.83
3,4,4',5'-TeCB(#81)	ND	ND	ND	0.43	ND	ND	0.079	ND	0.072	0.049	ND	0.071
3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	ND	ND	ND	0.92	0.46	ND	0.54	0.63	0.69	0.49	0.42	0.41
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	ND	ND	ND	ND	0.18	ND	0.38	0.31	0.34	0.23	0.29	0.24
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	23	21	21	16	12	16	11	10	11	8.2	8.1	8.6
2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	2.8	1.9	2.1	1.3	0.94	1.3	1.2	1.1	1.2	0.83	1.0	0.89
2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	82	71	76	53	43	55	46	41	46	34	39	36
2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	2.0	2.1	1.6	1.2	0.85	1.2	0.79	0.55	0.60	0.51	0.51	0.63
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	12	7.6	10	9.7	8.2	9.9	9.6	8.7	8.9	7.8	8.5	7.1
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	3.3	3.0	2.3	2.8	2.3	2.8	2.6	2.3	2.6	1.9	2.0	1.8
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	5.5	4.7	4.2	3.6	3.0	3.7	3.3	3.1	3.1	2.7	2.9	2.8
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	2.2	2.0	1.8	1.5	1.2	1.9	1.4	1.2	1.3	1.0	1.4	1.1

表4 マグロ試料を用いた高速溶媒抽出とアルカリ分解・溶媒抽出のダイオキシン類定量値の比較 (単位: pg/g whole basis)

化合物	ASE (n=4)			アルカリ分解・溶媒抽出 (n=4)			a / b
	範囲	平均 ^a	RSD(%)	範囲	平均 ^b	RSD(%)	
2,3,7,8-TeCDD	0.61 - 0.67	0.64	4	0.60 - 0.72	0.67	7	0.96
1,2,3,7,8-PeCDD	0.75 - 0.83	0.80	5	0.76 - 0.80	0.77	3	1.0
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.023 - 0.035	0.028	19	0.020 - 0.030	0.024	16	1.2
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.20 - 0.22	0.21	5	0.20 - 0.22	0.21	4	0.99
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.026 - 0.037	0.032	17	0.022 - 0.028	0.025	12	1.2
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.058 - 0.067	0.065	7	0.055 - 0.058	0.057	2	1.1
OCDD	0.15 - 0.17	0.16	6	0.070 - 0.094	0.081	13	2.0
2,3,7,8-TeCDF	4.4 - 5.5	5.0	9	4.8 - 5.3	5.1	5	0.98
1,2,3,7,8-PeCDF	0.92 - 1.1	0.99	6	0.94 - 1.0	0.96	3	1.0
2,3,4,7,8-PeCDF	2.7 - 3.1	2.9	5	2.7 - 2.8	2.7	2	1.1
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.15 - 0.21	0.19	14	0.15 - 0.25	0.18	26	1.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.14 - 0.21	0.18	19	0.17 - 0.21	0.18	11	1.0
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.11 - 0.15	0.13	14	0.12 - 0.14	0.13	7	1.0
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	ND	-	ND	ND	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.067 - 0.079	0.072	7	0.050 - 0.063	0.055	11	1.3
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND	-	ND	ND	-	-
OCDF	ND	ND	-	ND	ND	-	-
3,3',4,4'-TeCB(#77)	218 - 271	244	9	259 - 278	267	3	0.91
3,3',4,5'-TeCB(#81)	17 - 21	19	9	20 - 21	20	1	0.94
3,3',4,4',5-PenCB(#126)	214 - 247	230	6	229 - 237	233	1	0.99
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	26 - 29	27	5	28 - 28	28	1	0.97
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	60000 - 72000	64000	9	50000 - 68000	61000	14	1.1
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	2700 - 3400	3100	10	2700 - 2900	2800	4	1.1
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	100000 - 12000	110000	6	110000 - 130000	120000	8	0.96
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	2600 - 4100	3600	19	1900 - 3700	2700	27	1.4
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	31000 - 37000	36000	9	32000 - 42000	39000	12	0.92
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	8500 - 10000	9400	8	8000 - 11000	9700	13	0.97
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	20000 - 23000	22000	7	20000 - 25000	23000	11	0.96
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	4900 - 5900	5600	8	4400 - 5300	5000	9	1.1

表5 高速溶媒抽出による動物性食品中ダイオキシン類のクリーンアップスパイク回収率(%)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	アイスクリーム	アイスクリーム	牛乳	ヨーグルト (はっ酵乳)	チーズ	クッキー	クッキー	ビスケット	ビスケット
2,3,7,8-TeCDD	82	70	87	80	57	84	76	62	82
1,2,3,7,8-PeCDD	72	61	73	81	52	72	67	55	67
1,2,3,4,7,8-HxCDD	85	74	80	90	65	80	83	66	75
1,2,3,6,7,8-HxCDD	78	64	72	81	60	74	77	60	67
1,2,3,7,8,9-HxCDD	86	54	81	89	62	84	87	63	75
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	76	55	71	86	81	72	68	68	70
OCDD	86	53	83	96	102	80	78	71	75
2,3,7,8-TeCDF	94	80	87	86	71	88	82	79	87
1,2,3,7,8-PeCDF	78	64	72	82	78	69	72	69	71
2,3,4,7,8-PeCDF	80	64	73	80	69	69	67	63	69
1,2,3,4,7,8-HxCDF	79	68	75	86	86	71	80	69	70
1,2,3,6,7,8-HxCDF	74	62	69	79	82	69	74	64	65
2,3,4,6,7,8-HxCDF	97	69	87	94	97	83	89	81	84
1,2,3,7,8,9-HxCDF	92	48	88	92	94	88	91	78	76
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	81	68	78	89	95	79	75	76	77
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	78	51	77	94	92	75	72	70	73
OCDF	86	59	82	102	101	78	75	67	75
3,3',4,4'-TeCB(#77)	73	73	60	61	48	60	48	54	67
3,3',4,5'-TeCB(#81)	69	60	53	51	51	51	45	51	60
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	78	78	70	72	77	70	54	63	72
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	89	85	81	91	94	73	60	70	79
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	70	67	69	71	75	67	71	64	62
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	71	62	68	79	79	66	71	67	67
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	74	65	70	72	78	68	70	62	56
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	70	64	68	72	80	69	68	63	59
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	67	58	64	65	72	67	70	69	62
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	71	62	64	68	77	62	66	65	57
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	70	66	65	70	77	71	66	65	62
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	77	72	74	76	86	78	84	82	71

	10	11	12	13	14	15	16	17	18
	クッキー	牛乳	ヨーグルト (はっ酵乳)	ヨーグルト (はっ酵乳)	アイスクリーム	チーズ	チーズ	アイスクリーム	アイスクリーム
2,3,7,8-TeCDD	96	89	89	83	84	64	77	79	85
1,2,3,7,8-PeCDD	78	74	71	82	81	62	66	78	83
1,2,3,4,7,8-HxCDD	85	80	80	86	94	74	84	89	95
1,2,3,6,7,8-HxCDD	76	75	72	83	87	73	82	83	91
1,2,3,7,8,9-HxCDD	86	82	80	88	95	78	89	91	101
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	78	72	72	76	83	80	80	81	87
OCDD	84	80	84	83	95	97	100	82	94
2,3,7,8-TeCDF	96	86	91	94	88	78	95	85	96
1,2,3,7,8-PeCDF	80	74	75	82	85	82	84	80	82
2,3,4,7,8-PeCDF	75	74	72	78	77	72	73	76	80
1,2,3,4,7,8-HxCDF	78	74	80	74	82	89	91	78	88
1,2,3,6,7,8-HxCDF	73	70	75	75	79	80	87	78	85
2,3,4,6,7,8-HxCDF	94	90	86	90	93	94	97	88	104
1,2,3,7,8,9-HxCDF	88	84	90	89	97	99	99	92	100
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	84	75	74	77	86	92	94	85	90
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	81	72	79	80	92	100	95	88	89
OCDF	85	82	84	82	95	108	102	92	102
3,3',4,4'-TeCB(#77)	76	71	66	66	60	50	66	59	64
3,3',4,5'-TeCB(#81)	69	61	55	55	49	41	64	50	53
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	79	76	74	77	76	68	69	74	77
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	84	81	79	86	86	85	79	84	89
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	78	77	73	77	81	69	77	74	72
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	81	75	77	72	80	68	78	72	76
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	69	71	69	71	75	73	78	69	67
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	73	76	71	74	79	71	79	71	70
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	79	81	69	68	84	73	86	71	68
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	78	76	67	63	80	66	81	65	61
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	75	74	73	64	80	72	85	81	65
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	87	95	82	74	96	81	108	78	80

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

3-3. 魚油を使用した健康食品の臭素化ダイオキシン類及び その関連化合物の汚染調査

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

(3-3) 魚油を使用した健康食品の臭素化ダイオキシン類及びその関連化合物の汚染調査

分担研究者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

日本国内で販売されている魚油を使用した健康食品4製品について、臭素化ダイオキシン類(モノ臭素ポリ塩素化物も含む)、臭素化ジフェニルエーテル及びポリ塩化ビフェニルの汚染調査を実施した。臭素化ダイオキシン類異性体はほとんど検出されず、2製品で1.2 pg/g及び1.3 pg/gの2,3,7,8-TeBDFが検出されただけであった。臭素化ジフェニルエーテル及びポリ塩化ビフェニルは、全ての製品で検出された。特にイタチ鮫肝油製品では、賞味期限の異なる2ロットについて調査した結果、他の製品よりも高濃度の臭素化ジフェニルエーテル(150,000 pg/g及び210,000 pg/g)とポリ塩化ビフェニル(10,000 ng/g及び18,000 ng/g)が検出された。

上記の調査結果と、これらの4製品を含む健康食品(30製品)について別途調査した塩素化ダイオキシン類(PCDD/Fs及びCo-PCBs)の調査結果を合わせて、魚油を含む健康食品摂取によるリスク評価を行った。

その結果、ほとんどの製品では摂取により臭素化ダイオキシン類及び塩素化ダイオキシン類に対するリスクを大幅に引き上げる可能性は低いと考えられた。しかし、ごく一部の製品では高濃度の塩素化ダイオキシン類を含む場合があり長期的な摂取には注意が必要と考えられた。

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・食品部
佐々木久美子、天倉吉章

A. 研究目的

近年、魚油を使用した健康食品が数多く販売されている。これらの健康食品は生活習慣病を予防する効果が期待されているが、一方では魚油に含まれる環境汚染物質による健康影響が懸念される。特に、魚類の塩素化ダイオキシン類(PCDD/Fs及びCo-PCBs)汚染濃度は他の食品と比較し高濃度¹⁾であることから、魚油を使用した健康食品の塩素化ダイオキシン類、臭素化ダイオキシン類及びその関連化

合物による汚染濃度を把握することは食品衛生の観点から重要な課題である。しかし、これらの健康食品のダイオキシン類汚染調査は、数例の外国の報告^{2,3)}があるだけで、不足しているのが現状である。

そこで本研究では、日本国内で市販されている魚油を使用した健康食品の臭素化ダイオキシン(PBDD/Fs)、モノ臭素ポリ塩素化ダイオキシン(MoBPCDD/Fs)、臭素化ジフェニルエーテル(PBDEs)、及びポリ塩化ビフェニル(PCBs)について汚染調査を行った。その結果と、別途調査した塩素化ダイオキシン類汚染調査結果(F.参考資料を参照)を合わせて、健康食品摂取によるリスク評価を行った。

現在、魚油を使用した健康食品中に残留する臭素化ダイオキシン類及びその関連化

物並びに塩素化ダイオキシン類に関する規制値は、定められていない。そのため、耐容一日摂取量が定められている塩素化ダイオキシン類及び暫定一日摂取許容量が定められているポリ塩化ビフェニルについては、これらの汚染物質の健康食品からの摂取量を算出し、耐容一日摂取量又は暫定一日摂取許容量と比較することでリスク評価をした。なお、耐容一日摂取量(または暫定一日摂取許容量)は生涯にわたって摂取し続けた場合の健康影響を指標とした値であり、一時的に多少超過しても健康を直ちに損なうものではない。

B. 研究方法

1. 試料

日本国内で 2004~2005 年に市販されていた、魚油を使用した健康食品(4 製品、5 検体)を試料とした。これらは魚油をカプセルで被包した形状の製品であり、カプセルも含めて分析に供した。また、1 製品については、ロットによる汚染濃度の違いについて調査するため、異なる賞味期限が表示されている製品を試料とした。

2. 臭素化ダイオキシン類分析

試料(約 20 g)にクリーンアップスパイクを添加後、2 mol/L 水酸化カリウム水溶液(50 ml)及びメタノール(50 ml)を加え室温条件でアルカリ分解(約 15 時間)を行った。鮫の肝油を使用した健康食品については約 5 g より分析を開始した。アルカリ分解後、ヘキサン(50 ml)で抽出を 3 回行い抽出液を得た。抽出液は硫酸処理後、無水硫酸ナトリウムにより脱水した。試験液はシリカゲルカラムに負荷後、ヘキサン(200 ml)を流下し溶出液を得た。得られた溶出液は、次にフロリジルカラムに負荷した。ヘキサン(50 ml)で洗浄後、60%ジクロロメタン含有ヘキサン(200 ml)で臭素系ダイオキシン類を含む分画を溶出した。溶出液はさらに、活性炭分散シリカゲルカラムに負荷した。ヘキ

サン(60 ml)、ついで 25%ジクロロメタン含有ヘキサン(60 ml)で洗浄し、カラムを反転させ、目的の分画をトルエン(40 ml)で溶出した。得られた溶出液はシリンジスパイクを添加後、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(HRGC/HRMS)測定を行った。測定条件は、「ポリブロモジベンゾーパラジオキシン及びポリブロモジベンゾフランの暫定調査方法」⁴⁾を参考にした。検出下限(LOD)及び定量限界(LOQ)の一例については、表 1 に示した。

3. 臭素化ジフェニルエーテル分析

試料(約 10 g)にクリーンアップスパイクを添加後、1 mol/L 水酸化カリウムエタノール溶液(50 ml)を加え室温条件でアルカリ分解(約 15 時間)を行った。鮫の肝油を使用した健康食品については約 5 g より分析を開始した。アルカリ分解後、ヘキサン洗浄水及びエタノールを加え、ヘキサン(50 ml)で抽出を 2 回行い抽出液を得た。抽出液は硫酸処理後、無水硫酸ナトリウムにより脱水した。試験液は硝酸銀シリカゲルカラム(5%含水)に負荷後、ヘキサン(50 ml)を流下し溶出液を得た。溶出液はアセトンに溶媒置換後、1/2 量について GPC クリーンアップを実施した。アセトンを移動相(4 ml/min)とし、臭素化ジフェニルエーテルを含む分画を採取した。試験液にシリンジスパイク添加後、HRGC/HRMS 測定を行った。測定条件は、環境省が行った「ダイオキシン類の蓄積・ばく露状況及び臭素系ダイオキシン類の調査」⁵⁾を参考にした。LOD 及び LOQ の一例については、表 2 に示した。

4. ポリ塩化ビフェニル分析

試料(約 10 g)にクリーンアップスパイクを添加後、1 mol/L 水酸化カリウムエタノール溶液(50 ml)を加え室温条件でアルカリ分解(約 15 時間)を行った。鮫の肝油を使用した健康食品については約 5 g より分析を開始した。アルカリ分解後、ヘキサン洗浄水を加え、ヘキサン