

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

ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握
に関する研究

平成 19 年度～21 年度 総合研究報告書

研究代表者

| | | |
|--------------|-----|------|
| 国立医薬品食品衛生研究所 | 食品部 | 堤 智昭 |
|--------------|-----|------|

研究分担者

| | | |
|--------------|-----|-------|
| 国立医薬品食品衛生研究所 | 食品部 | 米谷 民雄 |
|--------------|-----|-------|

| | | |
|--------------|-----|--------|
| 国立医薬品食品衛生研究所 | 食品部 | 松田 りえ子 |
|--------------|-----|--------|

| | | |
|--------------|-----|------|
| 国立医薬品食品衛生研究所 | 食品部 | 堤 智昭 |
|--------------|-----|------|

| | | |
|------------|-------|-------|
| 福岡県保健環境研究所 | 保健科学部 | 中川 礼子 |
|------------|-------|-------|

| | | |
|------------|-------|-------|
| 福岡県保健環境研究所 | 保健科学部 | 芦塚 由紀 |
|------------|-------|-------|

研究報告書目次

1. 総合研究報告書

ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究 1

研究代表者 堤 智昭

食品からの塩素化ダイオキシン類及び有機フッ素化合物の摂取量調査

研究分担者 米谷民雄(平成 19 年度)

松田りえ子(平成 20, 21 年度)

食品中のダイオキシン類等の有害化学物質に対する迅速測定法の開発

研究分担者 堤 智昭

食品中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

研究分担者 中川礼子(平成 19, 20 年度)

芦塚由紀(平成 21 年度)

2. 研究成果の刊行に関する一覧表 25

3. 研究成果の刊行物・別刷 29

1. 総合研究報告書

ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究

堤 智昭

ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究

研究代表者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

研究要旨

本研究では、ダイオキシン類を中心に難分解性・蓄積性の高い有害化学物質について、食品汚染実態の把握及び分析の迅速化を目的として、下記の研究を実施した。

(1) 食品からの塩素化ダイオキシン類及び有機フッ素化合物の摂取量調査

(1-1) 塩素化ダイオキシン類のトータルダイエツト調査

(1-2) 塩素化ダイオキシン類の個別食品汚染調査

(1-3) 有機フッ素化合物の摂取量調査

(1-4) 食品中のダイオキシン類分析法ガイドラインの改正

(2) 食品中のダイオキシン類等の有害化学物質に対する迅速測定法の開発

(2-1) ダイオキシン類に対する高感度レポータージーンアッセイの開発

(2-2) 食品試料の芳香族炭化水素レセプター結合活性の調査

(2-3) 食品中ダイオキシン類および PCBs の迅速一斉分析法の検討

(2-4) 食品中ベンゾトリアゾール類の迅速測定法の開発

(3) 食品中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

(1-1) 毎年度、全国の 9 機関においてトータルダイエツト試料を調製し、塩素化ダイオキシン類を分析した。その結果、平成 19~21 年度の食事経由の塩素化ダイオキシン類一日摂取量の平均値はそれぞれ 0.93、0.92、0.84 pgTEQ/kg bw/day と推定された。

(1-2) 魚介類、畜肉、鶏卵及び健康食品等について、塩素化ダイオキシン類を分析し、汚染実態を明らかにした。ごく一部の健康食品では比較的高い濃度の塩素化ダイオキシン類が検出された。蓄積してきた個別食品汚染データを用いて一般人における塩素化ダイオキシン類摂取量をモンテカルロシミュレーションにより推定した。その結果、摂取量の平均値は 1.03 pg TEQ/kg bw/day と推計された。

(1-3) 有機フッ素化合物(PFOA 及び PFOS)のトータルダイエツト調査では、一日平均摂取量は PFOA で 11.5 ng/kg bw/day、PFOS で 12.1 ng/kg bw/day(未検出を検出下限値の 1/2 の値として計算)と推定された。肝臓を原料に含む食品、魚介類、ファーストフード等について調査した結果、蟹みそで比較的高い汚染濃度が認められたが、健康危害は生じないレベルであると考えられた。

(1-4) “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”を改正した。毒性等価係数の改訂、並びに分析技術の進歩等に伴う分析条件等の改訂を行い、“食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン”として改正ガイドラインを公表した。

(2-1) ダイオキシン類に対する芳香族炭化水素レセプター(AhR)レポータージーンアッセイの

高感度化を検討した。高感度化を図るため、ダイオキシン応答配列(DRE)を多く含むルシフェラーゼレポーターベクターを使用した。pGL7.3(12個のDREを含む)を遺伝子導入した安定発現細胞株(pGL7.3細胞株)を作製し、これを用いたレポーター遺伝子アッセイを評価した。pGL7.3細胞株を使用したアッセイの定量下限は0.49 pg/mlであり、従来の細胞株を使用したアッセイと比較し、2倍以上、高感度であった。また、毒性の強いダイオキシン異性体に選択的に応答し、前処理した魚試料に対する添加回収率も良好であった。

(2-2)食品中のダイオキシン類の簡易測定生物検定法(バイオアッセイ)の信頼性確保に関する基礎的検討を目的に、AhR結合活性(ダイオキシン様活性)について実態調査を行った。食品成分が高濃度に存在する濃縮物加工食品(健康食品やサプリメント)50種を対象に、レポーター遺伝子アッセイ(ケイラックスアッセイ)によりAhR活性を評価したところ、大豆、ゴマ、プロポリス抽出物含有食品抽出物などに活性が認められた。含有するAhR活性成分を精査したところ、大豆、ゴマ抽出物含有食品からはイソフラボン類、プロポリス抽出物含有食品からはフラボン類が活性成分として明らかとなり、これらを含む食品をバイオアッセイにより測定する際にはその影響も考慮した前処理やデータの解析が必要であることが考察された。

(2-3)食品中のダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニル(PCBs)の迅速一斉分析法の開発を行った。確立した分析法は4つの工程、①高速溶媒抽出法による自動迅速抽出、②多層シリカゲルカラム及び活性炭シリカゲルカラムによる試料精製、③ゲル浸透クロマトグラフィーによる迅速な試料精製、④高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計(HRGC/HRMS)による機器分析、から構成される。本試験法により食品中のダイオキシン類・PCBsの226種異性体を迅速かつ一斉に同定・定量できることを示した。

(2-4)ベンゾトリアゾール類の中から分析対象物質を選定し、迅速測定に関わる加熱流下式高速抽出条件、抽出液中の脂質等のアルカリ分解条件、アルカリ分解液のカートリッジ精製条件、高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析装置の分析条件等を検討し、最適条件を提示して検出限界と定量限界濃度を明らかにした。また、開発した方法の市販魚への適用性を確認するとともに、市販魚のベンゾトリアゾール類汚染実態を調査した。

(3)食品試料における臭素系ダイオキシン類(PBDD/DFs、MoBrPCDD/DFs)とその関連化学物質である臭素化ジフェニルエーテル(PBDEs)、臭素化ビフェニル(PBBs)、コプラナー塩素・臭素化ビフェニル(Co-PXBs)の同時分析法、ヘキサブロモシクロドデカン(HBCDs)及びテトラブロモビスフェノールA(TBBPA)の個別分析法を構築した。魚試料の汚染調査では、アナゴから臭素化ダイオキシンが微量に検出された。PBDEsはすべての魚から検出され、PBBsは16試料中14試料から4-6臭素化体の異性体が検出された。国内3地域のマーケットバスケット方式によるトータルダイエツト調査では、分析値が検出下限以下の場合はゼロとして計算(ND=0)した場合、臭素系ダイオキシン類は平均0.00176 pgTEQ/kg bw/day、PBDEsは3.03 ng/kg bw/day、PBBsは0.0058 ng/kg bw/dayであった。Co-PXBsはいずれの食品群からも検出されなかった。HBCDsはND=0とした場合、平均2.4 ng/kg bw/day、TBBPAは1.2 ng/kg bw/dayであった。

研究分担者

| | |
|-------|--|
| 米谷民雄 | 国立医薬品食品衛生研究所 食品部長(平成 19 年度) |
| 松田りえ子 | 国立医薬品食品衛生研究所 食品部長(平成 20、21 年 度) |
| 堤 智昭 | 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官 |
| 中川礼子 | 福岡県保健環境研究所 保健科学部生活化学課長 (平成 19、20 年度) |
| 芦塚由紀 | 福岡県保健環境研究所 保健科学部生活化学課 研究員(平成 21 年度) |

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

石塚 菜穂子

福岡県保健環境研究所

堀 就英、安武大輔、村田さつき、

新谷依子

(独)農林水産消費安全技術センター

白井裕治

(財)日本食品分析センター

丹野憲二、野村孝一、中村宗知、柳俊彦、

河野洋一、福沢栄太、宮脇栄子

松山大学

天倉吉章、好村守生、吉田隆志

大阪府立公衆衛生研究所

田中之雄、柿本健作

宮城県保健環境センター

氏家愛子

埼玉県衛生研究所

堀江正一

横浜国立大学

浦野紘平、中井里史、清水優子

自治医科大学

香山 不二雄

株式会社 日吉

中村昌文、半田洋士

A.研究目的

ダイオキシン類に代表される難分解性かつ高蓄積性の有害化学物質は、一旦、環境中に排出されると長期間にわたり残留する。また、高蓄積性であるため食物連鎖を経て食品中に濃縮された結果、食品中に高濃度に残留し、人の健康に影響を及ぼす危険性がある。そこで、これら有害化学物質の人体への影響を評価するためには、食品汚染状況の把握が重要である。さらに、汚染調査を効率的に行うために、食品中の有害化学物質を迅速に測定できる分析法の開発が必要とされる。

本研究の目的は、ダイオキシン類(塩素化、臭素化、塩素・臭素化混合物)を中心に、臭素化難燃剤及び有機フッ素化合物について、トータルダイエット調査及び個別食品の汚染調査を行い食品からの摂取量を推定する。また、食品中のダイオキシン類、ポリ塩化ビフェニル(PCBs)、及びベンゾトリアゾール類を対象に、バイオアッセイや機器分析による迅速測定法を開発する。これらの目的のために、次の研究を実施した。

(1)食品からの塩素化ダイオキシン類及び有機フッ素化合物の摂取量調査

(1-1)塩素化ダイオキシン類のトータルダイエット調査

(1-2)塩素化ダイオキシン類の個別食品汚染調査

(1-3)有機フッ素化合物の摂取量調査

(1-4)食品中のダイオキシン類分析法ガイドラインの改正

(2)食品中のダイオキシン類等の有害化学物質に対する迅速測定法の開発

(2-1)ダイオキシン類に対する高感度レポータージーンアッセイの開発

(2-2)食品試料の芳香族炭化水素レセプター結合活性の調査

(2-3)食品中ダイオキシン類およびPCBsの迅速一斉分析法の検討

(2-4)食品中ベンゾトリアゾール類の迅速測定法の開発

(3) 食品中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

B. 研究方法

(1-1) 塩素化ダイオキシン類のトータルダイエツト調査

トータルダイエツト試料は、全国 7 地区の 9 機関で調製した。平成 14 年度国民栄養調査並びに平成 15、16 年度国民健康・栄養調査の各地区における食品別摂取量表に基づいて、それぞれ食品を購入し、それらの食品を計量し、そのまま、または調理した後、13 群に大別して、混合均一化したものを試料とした。さらに第 14 群として飲料水を試料とした。第 10 群(魚介類)、11 群(肉・卵)及び 12 群(乳・乳製品)は、各機関で魚種、産地、メーカー等が異なる食品で構成された各 3 セットの試料を調製した。これらについて、「食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン」に従って塩素化ダイオキシン類を分析し、一日摂取量を算出した。なお、第 10、11 及び 12 群を除く食品群試料は 9 機関で調製した試料を群毎に 5 ブロックに分け、複数機関の試料を混合して分析を行った。

(1-2) 塩素化ダイオキシン類の個別食品汚染調査

魚介類、畜肉、鶏卵及び健康食品など計 133 試料について、「食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン」に従って塩素化ダイオキシン類を分析し、汚染実態を明らかにした。さらに、国民健康・栄養調査結果を用い、一般的な国民の魚介類からのダイオキシン摂取量分布をモンテカルロ・シミュレーションにより推定した。食品の摂取量は、国民健康・栄養調査結果を食品別に集計した結果(平成 16-18 年度の平均)を用いた。ダイオキシン類濃度データは、平成 10~19 年度に行われた魚介類の個別食品汚染調査結果中の魚介類

データを用いた。

(1-3) 有機フッ素化合物の摂取量調査

トータルダイエツト試料は、全国 2 地区の 2 機関で調製した。厚生労働省の平成 14 年度国民栄養調査並びに平成 15、16 年度国民健康・栄養調査の各地区における食品別摂取量表に基づいて、それぞれ食品を購入し計 14 食品群を調整した。個別食品については、肝臓原料に含む食品(21 試料)、魚介類(30 試料)、ファーストフード(13 試料)、及びポップコーン(3 試料)を調査した。有機フッ素化合物(PFOA 及び PFOS)の分析には高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析装置(LC/MS/MS)を使用し、安定同位体による内標準法により定量した。

(1-4) 食品中のダイオキシン類分析法ガイドラインの改正

毒性等価係数(TEF)の改正、分析条件の更新を中心に“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”を改正した。改正作業を行うにあたりダイオキシン類分析の専門家より構成される検討会を開催し、検討項目について議論した。

(2-1) ダイオキシン類に対する高感度レポータージーンアッセイの開発

芳香族炭化水素レセプター(AhR)結合レポータージーンアッセイの高感度化を検討した。高感度化を図るため、ダイオキシン類応答性 DNA 領域(DRE)を多く含むベクターを用いて、安定発現細胞株を作製した。レポーター遺伝子にホタルルシフェラーゼを用いたベクターとして、12 個の DRE を多く含む pGL7.3 をマウス培養細胞株(Hepa1c1c7)に遺伝子導入した。また、比較のために DRE を 4 個しか含まない pGL7.1 も同様に細胞に遺伝子導入した。2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) に対する応答性を指標に安定発現細胞株の

スクリーニングを行い、最も高い応答性を示した pGL7.3 細胞株を選択した。pGL7.3 細胞株を使用したルシフェラーゼレポータージーンアッセイの定量範囲を設定するため、2,3,7,8-TCDD 標準溶液を繰返し測定し測定精度及び正確度を検討した。種々のダイオキシン異性体に対する応答性についても検討した。また、前処理した魚試験液中でダイオキシン類が検出可能か検討するため、マグロ及びブリを前処理し得られた PCDD/Fs 分画、及び Co-PCBs 分画に対し添加回収試験を実施した。PCDD/Fs 分画には PCDD/Fs 混合品、Co-PCBs 分画には#126 を添加し、回収率を算出した。

(2-2) 食品試料の芳香族炭化水素レセプター結合活性の調査

食品成分が高濃度に存在する濃縮物加工食品であるサプリメントや健康食品を試料とし、市販品 50 種の含水エタノール抽出物の AhR 活性をレポータージーンアッセイ(ダイオキシン類と AhR との結合活性をルシフェラーゼ活性により検出するバイオアッセイ)により評価し、実態調査を行った。AhR 活性が認められた試料(大豆、ゴマ、プロポリス抽出物を含有する 8 試料)について、各分画物(ヘキサシ、酢酸エチル、水画分)を調製し、AhR 活性を示した分画物の HPLC 分析を行った。5 試料の検出されたピークについて、各種カラムクロマトによる分離精製を繰返し、化合物の単離を行った。単離した化合物については、機器分析データ(NMR、MS)に基づき構造解析を行った。また、これまでの研究結果から AhR 活性成分としてフラボノイドがあげられることから、未検討のフラボノイド類 25 種について AhR 活性を測定した。

(2-3) 食品中ダイオキシン類および PCBs の迅速一斉分析法の検討

迅速一斉分析法の構築のための予備検討

として、PCBs の市販内部標準液に含まれる不純物の検定を行った。組成の同じ $^{13}\text{C}_{12}$ -PCBs (1~10 塩化物、27 種化合物)の内部標準物質製品を国内 2 社より購入し、これらをダイオキシン類の内部標準溶液と各々混合して抽出時に使用しても分析精度上の問題がないか、確認試験を行った。次に、従来の機器分析条件を改良し、高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計(HRGC/HRMS)測定で 1~10 塩素化 PCBs 各異性体を短時間で異性体分離できる条件を検討した。また、ASE 抽出物の効率的な精製方法を確立するために、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー及びゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)の操作条件を検討した。多層シリカゲルカラムでは充填剤の量、溶出溶媒の極性の最適化を行った。GPC では分析妨害成分と目的物質を分離するための最適な条件を検討した。以上の結果を踏まえて、生鮮魚介類試料を用いて全分析操作を複数回繰返しを行い、標準品添加回収率と測定値の再現性を調べた。さらに、共通の生鮮魚介類試料を迅速一斉分析法と従来法(アルカリ分解・溶媒抽出法)で分析し、各々から得られる定量値が一致するか比較した。繰返し分析による定量値の再現性(ばらつき)を比較し、迅速一斉分析法の妥当性を評価した。

(2-4) 食品中ベンゾトリアゾール類の迅速測定法の開発

化審法で第1種特定化学物質に指定された(DBHP)BTを含む6種類のベンゾトリアゾール類を研究対象とした。魚試料は、脂質含有率が大きく異なるマサバ、マダイ、サケ、ブリ、クロマグロをフードプロセッサーで細かく砕いて均一化して使用した。抽出装置には、4試料が同時に抽出できる加熱流下式高速抽出装置 SE-100 型(三菱化学アナリテック社製)を用い、無水硫酸ナトリウム混合比、試料充填方法、抽出溶媒、通液量等を検討した。抽出液は、濃縮後、KOH を添加し、温度、時間を変

えて脂質分解処理を行い、分解率と分解後のヘキサンでの液々抽出の組成、回数、水洗浄の回数、静置時間等による分解物との分離特性を最適化した。また、分離液を脱水後、濃縮、一部転溶した液をフロリジル、シリカゲル、NH₂ カートリッジ等で精製する溶媒や通液量等の条件を検討した。精製した液を蒸発させ、メタノール 500 μ L に転溶して、LC/MS/MS(Waters 2695 Separation_ModuleのHPLCとMicromass Quattro Micro)を用い、ESIまたはAPCIのポジティブ法とネガティブ法で、移動相組成、注入量等による影響を検討し、最適条件を定め、検出限界と定量限界を求めた。

(3) 食品中臭素化ダイオキシン及びその関連化合物汚染調査

食品試料における臭素系ダイオキシン類(PBDD/DFs、MoBrPCDD/DFs)とその関連化学物質である臭素化ジフェニルエーテル(PBDEs)、臭素化ビフェニル(PBBs)、コプラナー塩素・臭素化ビフェニル(Co-PXBs)の分析法の検討を行った。また、ヘキサブロモシクロドデカン(HBCDs)、テトラブロモビスフェノールA(TBBPA)の個別分析法についても検討した。個別食品の汚染調査では、臭素系ダイオキシン類、PBDEs、PBBs、Co-PXBs及びTBBPAについては16試料、HBCDsについては61試料の分析を実施した。マーケットバスケット方式による摂取量調査では、関東、関西、九州の3地域で調製された第1群から第13群までのトータルダイエツト試料について臭素系ダイオキシン、PBDEs、PBBs、Co-PXBs、HBCDs及びTBBPAの分析を実施し、各地域における食品群別の摂取量や1日摂取量を算出した。

C. 研究結果及び考察

(1-1) 塩素化ダイオキシン類のトータルダイエ

ツト調査

全国の9機関でトータルダイエツト試料を調製し、塩素化ダイオキシン類を分析した結果を表1に示した。不検出の異性体濃度はゼロ(以下、ND=0と略す)として計算した。平成19~21年度の食事経由の塩素化ダイオキシン類一日摂取量の平均値はそれぞれ0.93、0.92、0.84 pgTEQ/kg bw/dayと推定された。日本における耐容一日摂取量(TDI)である4 pgTEQ/kg bw/dayを大幅に下回っていた。また最も高かった摂取量でも2.51 pgTEQ/kg bw/day(平成19年度の最大値)であり、耐容一日摂取量より低かった。総ダイオキシン類摂取量に対する各食品群が占める割合についても表1に示した。10群(魚介類)、11群(肉類・卵類)及び12群(乳・乳製品)からの摂取量が全体のほとんどを占めており、特に10群からの摂取量が顕著であった。過去のトータルダイエツト調査でも同様の結果が得られている。

塩素化ダイオキシン類の一日摂取量の経年推移を表2に示した。過去の調査結果は2005年のTEFを用いて再計算した。平成21年度のダイオキシン類摂取量(平均値)は0.84 pgTEQ/kg bw/dayであり、平成10年度以降の調査結果の中で最も低い値であった。2番目に低い値は平成18年度の0.90 pgTEQ/kg bw/day、3番目に低い値は平成20年度の0.92 pgTEQ/kg bw/dayであり、平成18年度から21年度の4年間の摂取量推定値は、1.0 pgTEQ/kg bw/day以下のレベルで概ね一定している。また、調査研究が開始された平成10年度及び11年度のダイオキシン類摂取量は1.75および1.92 pgTEQ/kg bw/dayであり、これらの値と比較すると、最近の摂取量は50%程度まで低下していると考えられる。平成13年度から18年度までは継続した低下傾向が認められるが、18年度以降はほぼ一定した摂取量となっている。本調査研究では、ダイオキシン類摂取への寄与が大きい第10~12

群の試料を各機関で各3セット調製し、ダイオキシン類摂取量の最小値、中央値及び最大値を求めている。同一機関であっても、推定されるダイオキシン類摂取量の最小値と最大値には数倍以上の開きがあった。3セットの試料は同一地域で市販食品を購入し調製されているが、購入した魚種、産地、個体の差が影響しているものと考えられる。

(1-2)塩素化ダイオキシン類の個別食品汚染調査

3年間で133試料の塩素化ダイオキシン類濃度を明らかにした。表3には一般食品(103試料)の食品毎の汚染濃度(平均値、中央値、最大値及び最小値)を示した。塩素化ダイオキシン類濃度が高かったのは魚介類であり、ブリ、マス、マグロは比較的高い平均汚染濃度(>2 pgTEQ/g)を示した。

表4には健康食品(計30試料)の塩素化ダイオキシン類濃度を示した。製品により汚染濃度は大きく異なったが、最も汚染濃度が高かったのは、鮫肝油製品の41 pgTEQ/gであった。なお、本製品を記載されている最大摂取量に従い食した場合の塩素化ダイオキシン類摂取量は98 pgTEQ/day(2.0 pgTEQ/kg bw/day)となり、TDIに占める割合は約50%であった。本製品を調査した平成19年度のトータルダイエツト調査による国民平均のダイオキシン類摂取量は0.93 pgTEQ/kg bw/dayであることから、他の一般的な食品からの摂取量を考慮してもTDIを超えることはない。しかし、ダイオキシン類摂取量を大幅に上昇させることから、注意を払う必要がある。

現在までに蓄積されている個別食品の塩素化ダイオキシン類汚染データ(平成10~19年度)を基に、一般人におけるダイオキシン類摂取量をモンテカルロ・シミュレーションにより推定した。その結果、摂取量の平均値は1.03 pgTEQ/kg bw/dayと推計され、トータルダイエツト試料による結果と同程度となった。また、摂

取量の中央値は0.43 pgTEQ/kg bw/day、90パーセンタイル値は2.59 pgTEQ/kg bw/dayと推定された。

(1-3)有機フッ素化合物の摂取量調査

全国2ヵ所(関東及び関西地区)において調製したトータルダイエツト試料を分析し、PFOA及びPFOSの摂取量を算出した(表5)。ND=0場合、平均値はPFOAで0.06 ng/kg bw/day、PFOSで0.98 ng/kg bw/dayであった。分析値が不検出の場合に検出限界の1/2を当てはめて計算した(ND=LOD/2)場合、平均値はPFOAで11.5 ng/kg bw/day、PFOSで12.1 ng/kg bw/dayであった。リスク評価のため、ND=LOD/2の場合の一日摂取量を、European Foods Safety Authority(EFSA)が設定したTDI(PFOAが1,500 ng/kg bw/day、PFOSが150 ng/kg bw/day)と比較した。その結果、PFOAの摂取量はTDIの1/130程度、PFOSの摂取量はTDIの1/12程度であり、TDIを大きく下回っていた。

また、肝臓を原料に含む食品、魚介類、ファーストフード等(計67試料)についての調査結果を表6に示した。最大の汚染濃度は蟹みそで検出されたPFOSの2.2 ng/gであった。蟹みその平均的な摂取量は多くはないが、体重50 kgの人が、仮に当該の蟹みそ100 gを毎日食したとすると、PFOSの一日摂取量は4.4 ng/kg bw/dayになる。これに他の食品からの摂取量として、トータルダイエツト調査で得られたPFOSの平均1日摂取量である12.1 ng/kg体重/日(ND=LOD/2)を加算しても16.5 ng/kg bw/dayであり、EFSAが設定したTDIと比較すると1/9程度であった。

(1-4)食品中のダイオキシン類分析法ガイドラインの改正

TEFの改訂及び分析技術の進歩等に伴い、“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”を改正した。

TEF については、WHO より提案された新しい TEF (2005 TEF) に変更した。前処理操作については、DMSO 分配処理操作の追加、及び前処理操作に必要な試薬等を見直した。また、ガスクロマトグラフ分析条件の例示、試料測定時の確認事項(相対感度係数の変動の許容範囲等)も見直した。これらの改正点をとりまとめ、“食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン”として公表した。

(2-1)ダイオキシン類に対する高感度レポータージーンアッセイの開発

DRE を多く含む pGL7.3 細胞株は低濃度の TCDD により誘導されるルシフェラーゼ活性が、pGL7.1 細胞株と比較し、2 倍以上に上昇した。pGL7.3 細胞株を使用したレポータージーンアッセイの定量範囲は 0.49~31.3 pg/ml、定量下限は 0.49 pg 2,3,7,8-TCDD/ml (0.047 pg 2,3,7,8-TCDD/assay) であった。本定量下限は現在、汎用されている細胞株と比較し、2 倍以上、高感度であった。種々のダイオキシン異性体に対する応答性を検討した結果、毒性の強い異性体に選択的に応答することが明らかとなった。本アッセイの各異性体に対する応答性は TEF と良く類似していた。本アッセイが魚試料中のダイオキシン類を測定可能か検討するため、前処理した魚試料液に対する添加回収試験を実施した。回収率は PCDD/Fs 分画では 67~92%、Co-PCBs 分画では 79~100% であった。試験液中に含まれるマトリックスの影響により回収率がやや低くなることが考えられたが、スクリーニング法として使用する場合は許容できる回収率であった。本レポータージーンアッセイは高感度であるため、食品などを対象にしたダイオキシン類のスクリーニング法として期待できる。

(2-2) 食品試料の芳香族炭化水素レセプター結合活性の調査

50 種の試料抽出物についてレポータージ

ーンアッセイにより AhR 活性を測定したところ、大豆、ゴマ、プロポリス抽出物などを含有する試料において AhR 活性が認められた。活性試料について各分画物(ヘキサン、酢酸エチル、水画分)を調製し、AhR 活性を測定したところ、大豆抽出物含有食品およびゴマ加工食品については酢酸エチル分画物に AhR 活性が認められた。一方、プロポリス抽出物含有食品においては、ヘキサン分画物に AhR 活性が認められた。活性の認められた分画物について HPLC 分析を行い、含有成分の分布を検討した。検出されたピークを同定する目的で、活性分画物について各種カラムクロマトによる分離精製を繰り返し、大豆抽出物含有食品から 6 種の大豆イソフラボンの他、2 種のイソフラボン類(formononetin, biochanin A)を単離、同定した。ゴマ加工食品含有食品からは 2 種のイソフラボン類を同定した。プロポリス抽出物含有食品試料からは、8 種の化合物(isorhamnetin, pinobanksin, chrysin, pinocembrin, galangin, tectochrysin, pinostrombin, artemipillin C)を単離、同定した。単離した化合物について AhR 活性を評価したところ、tectochrysin は顕著な AhR 活性を示した。また、これまでの結果から、AhR 活性を示す食品成分としてフラボノイドがあげられるため、未検討のフラボノイド類 25 種について AhR 活性を評価した。結果、3',4'-dimethoxy flavone、4',6,7-trihydroxy isoflavone、tamarixetin に強い AhR 活性が認められ、特に tamarixetin は 2,3,7,8-TCDD より強い AhR 活性を示した。一方で、その他のものは AhR 活性を殆ど示さなかった。

本結果から、イソフラボンやフラボンを含有する食品について本バイオアッセイを使用する際には、その影響も考慮した前処理やデータ解析が必要であることが考察された。また本研究により明らかになった AhR 活性成分の特性をみると、イソフラボンのように過剰摂取により健康影響が懸念されるものもあるが、一方で有効成分として報告されているものであり、ダ

イオキシンのような蓄積性はないことから健康影響はないものと判断される。

(2-3) 食品中ダイオキシン類およびPCBsの迅速一斉分析法の検討

PCBsの市販内部標準溶液2製品をHRGC/HRMSで測定した結果、1製品から微弱ではあるが2,3,4,6,7,8-hexaCDFのネイティブ体に相当するピークを認めた。しかし、それ以外の毒性評価対象物質に相当するピークはネイティブ体・ラベル体ともに不検出であった。結果として、市販内部標準物質2製品をダイオキシン類・PCBsの一斉分析に用いたとき、2,3,7,8-PCDD/Fsの定量精度に大きな影響を及ぼす量の不純物の存在は認められなかった。

HRGC/HRMS測定条件の検討においては、文献に従いGCカラムオープンの初期温度を130℃としてPCBs標準品を測定すると、一塩素化PCBs(monoCBs)がピーク割れを起こし、十分な測定感度が得られなかった。これは、初期温度が高く目的物質が十分にカラム液相に保持されなかったためと考えられた。GCオープンの初期温度を100℃とした場合、良好なクロマトグラムが得られることがわかった。結果として、HRGC/HRMSに対して試料注入回数1回、計測時間約30分でPCBs全異性体を同定できる機器分析条件を確立した。

多層シリカゲルカラムの条件検討では、目的物質の吸着・損失を抑制するために種々の充填剤の重量を従来法に対して各々1/3量とし、溶出液に10%ジクロロメタン含有ヘキサンを用いることで良好な回収率が得ることができた。この改良型カラムに粉末ミルク由来の抽出物を負荷し溶出させたところ、カラム溶出時の着色は充填剤層に留まり、充填剤量と溶出溶媒の極性選択は適切であることが確認できた。

GPCの操作条件の検討においては、粉末ミルク由来の抽出物を装置に注入し、注入開始

から22分までの溶出液を捨てて油状成分を分離し、22~32分までをPCBs画分として分取した。この試料をHRGC/HRMSに注入したところ、1~10塩素化PCBsについて妨害成分の影響のない良好なクロマトグラムが得られた。

以上の検討結果に基づき、構築した全分析操作を実際の魚介類試料を用いて3回繰り返して試行し、標準品添加回収率と定量値の再現性を調べた。PCBs内部標準物質の26種化合物の添加回収率は、ダイオキシン類分析時の目安とされる40~120%の範囲内であり、回収率の相対標準偏差は、一部の異性体を除き6~18%と良好であった。また定量値の再現性も概ね良好であった。次に、再び実際の魚介類試料を用いて、動物性食品中PCBsの標準的分析法であるアルカリ分解・溶媒抽出法との比較試験を行ったところ、両者の定量値は良く一致した。

(2-4) 食品中ベンゾトリアゾール類の迅速測定法の開発

加熱流下式高速抽出装置の抽出条件を検討した。無水硫酸ナトリウムは試料5gに対し約30gが必要であった。ヘキサン・エタノール(1:1)で充填した場合より、エタノールで充填した場合の方が高い回収率であったため、エタノールで充填することとした。脂質の多い試料では15~20minでも4~7%回収されたことから、抽出時間(液量)は20min(80mL)とした。抽出温度は30℃と45℃で回収率に違いは認められなかったため、30℃とした。

KOHの処理条件については、従来の90℃アルカリ分解・抽出法では、多数を同時処理するのが困難で、さらに抽出液の分離が非常に困難であった。そこで各種条件を変更し、40℃、抽出エタノール液5mL/gにKOHを5mmol/gとなるように加えた。脂質含有率20%未満と考えられる魚種では1h、20%以上と考えられる魚種では2hアルカリ分解した後、ヘキ

サン/エタノール/水=2/5/5 により抽出すると良好に分離可能であった。なお、(OHP)BT と (MHP)BT は、KOH 処理で分解されることが判明したため、(DBHP)BT、(DAHP)BT、(DBHP)CBT、(BMHP)CBT の 4 種を対象とした。

精製方法については、KOH 処理後の濃縮液をフロリジル、シリカゲルで処理した場合のカートリッジの着色とベンゾトリアゾールの溶出との関係を調べた。その結果、NH₂ カートリッジでは、アセトンのみでも淡黄となり、フロリジル、シリカゲルのカートリッジでは、分離が困難であった。そこで、NH₂ カートリッジに KOH 処理後の濃縮液 1mL を負荷した後、ヘキサン 4mL で溶出させることとした。

LC/MS/MS 分析条件については、APCI ポジティブ法の感度は ESI 法より高くないものの、安定していた。また、移動相はメタノール/水=99/1 が高感度であった。ギ酸または酢酸アンモニウム添加の効果は無かった。また、注入量は 50 μL 注入とした。魚試料 5g より分析した際の検出限界(最終試料液 500 μL、50 μL 注入)は 0.08~0.2 ng/g-wet、定量限界は 0.2~0.6 ng/g-wet であった。確立した魚中ベンゾトリアゾール類の分析手順を図 1 に示した。また、本法で分析した市販魚中のベンゾトリアゾール類濃度を表 7 に示した。

(3) 食品中臭素化ダイオキシン及びその関連化合物汚染調査

PBBs 及び Co-PXBs の分析法の検討を行った結果、これまで分析を行ってきた PBDEs と同じ前処理法で分析を行うことが可能であった。さらに、HRGC/HRMS におけるカラム交換の手間を省いて効率よく測定を行うために、現在 HRGC/HRMS で測定を行っている臭素系ダイオキシン類、PBDEs、PBBs、Co-PXBs 及び TBBPA(エチル化体)の全化合物を分離良くかつ高感度に 1 種類のカラムで測定することを検討した。カラムの種類や昇温条件等を検

討した結果、DB-5(長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.1 μm)を用いて臭素系ダイオキシン類を含めた計 66 種類の臭素系化合物を網羅的に 1 種類のカラムで分析することが可能となった。いずれの化合物においても、これまでの試料の測定で得られていた検出下限値レベルの感度を達成できた。

構築した分析法により、魚介類個別試料を分析した結果を表 8 に示す。臭素化ダイオキシン類はアナゴ 3 検体から 0.0018-0.015 pgTEQ/g で検出されたが、国産のアナゴにおける塩素化ダイオキシン類の報告値(Co-PCB は除く)の 0.5 pgTEQ/g と比較すると極めて低い濃度であった。検出された異性体は 2,3,7,8-TBDD、2,3,7,8-TBDF、1,2,3,4,6,7,8-HpBDF であった。PBDEs はすべての検体から #49、#47、#100、#99、#154、#153、#209 などの異性体が検出された。PBBs は 16 試料中 12 試料から検出された。主な異性体は 4 臭素化体の #49、#52、6 臭素化体の #153、#155 であった。Co-PXBs はいずれの試料からも検出されなかった。

国内 3 地域(関東、関西、九州)におけるマーケットバスケット方式による臭素系ダイオキシン類、PBDEs、PBBs 及び Co-PXBs の 1 日摂取量の総括表を表 9 に示す。臭素系ダイオキシン類は ND=0 とした場合、平均 0.00176 pgTEQ/kg bw/day、PBDEs は 3.03 ng/kg bw/day、PBBs は 0.0058 ng/kg bw/day であった。Co-PXBs はいずれの食品群からも検出されなかった。ND=1/2LOD とした場合、臭素化ダイオキシン類は、平均 1.58 pgTEQ/kg bw/day、PBDEs は 3.08 ng/kg bw/day、PBBs は 0.0619 ng/kg bw/day、Co-PXBs は 0.00680 ng/kg bw/day であった。これらの一日摂取量と、現在我が国が法律上定めている TDI や最小毒性発現量(NOEL)と比較したとき、本調査結果は低い値であり、これらの化学物質が毒性学的に懸念を与えるものではないと思われる。

表 10 に国内 3 地域の魚介類個別試料(平成 16 年度に PBDEs を測定した検体)中の HBCDs の分析結果を示す。ΣHBCDs の中央値は、九州<中国・四国<中部の順に高かった。天然生育の魚介類 32 種 38 件に限定して比較した場合、HBCDs の中央値は中部/九州では 73 倍、中部/中国・四国では 48 倍の差があったが、ΣPBDEs の中央値は、中部/九州では 3.3 倍、中部/中国・四国では 3 倍の差に留まった。これらの結果から、魚介類食品の ΣHBCDs が地域によっては進んでいることが示唆された。さらに表 11 に別の魚介類 16 試料中の HBCDs 及び TBBPA の分析結果を示す。HBCDs は 13 試料で検出され、HBCDs 異性体の中では α-HBCD が高濃度で検出される場合が多く、ついで γ-HBCD であった。TBBPA は 13 検体で検出され、最高値は中部タイ②の 0.31 ng/g であった。マーケットバスケット方式による HBCDs 及び TBBPA の 1 日摂取量調査結果を表 12 に示す。HBCDs は ND=0 とした場合、平均 2.4 ng/kg bw/day、TBBPA は 1.2 ng/kg bw/day、であった。ND=1/2LOD とした場合、HBCDs は平均 3.5 ng/kg bw/day、TBBPA は 1.3 ng/kg bw/day であった。これらの結果より、HBCDs 及び TBBPA の 1 日摂取量についても、毒性発現量 (NOAEL) より極めて低い値であり、ヒトへの健康影響はないと思われた。

D. 結論

(1-1) 3 年間(平成 19~21 年度)のトータルダイエツト調査の結果、塩素化ダイオキシン類 1 日摂取量の平均値はそれぞれ 0.93、0.92、0.84 pgTEQ/kg bw/day と推定された。日本の TDI を下回っていた。

(1-2) 魚介類、畜肉、鶏卵及び健康食品等について、塩素化ダイオキシン類を分析し他結果、ごく一部の健康食品で比較的高い濃度の塩素化ダイオキシン類が検出された。また、一

般人におけるダイオキシン類摂取量をモンテカルロ・シミュレーションにより推定した結果、摂取量の平均値は 1.03 pg TEQ/kg bw/day と推計された。

(1-3) トータルダイエツト調査の結果、有機フッ素化合物の 1 日摂取量の平均値は PFOA で 11.5 ng/kg bw/day、PFOS で 12.1 ng/kg bw/day であった (ND=LOD/2)。これらの値は EFSA の TDI を大きく下回っていた。また、肝臓を原料に含む食品、魚介類、ファーストフード等について調査した結果、蟹みそで比較的高い汚染濃度が認められたが、健康危害は生じないレベルであると考えられた。

(1-4) TEF の改訂、並びに分析技術の進歩等に伴う分析条件等の改訂を行い、“食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン”として改正ガイドラインを公表した。

(2-1) pGL7.3 細胞株を使用して、高感度なルシフェラーゼレポータージーンアッセイを構築した。本アッセイの定量限界は、従来の細胞株を使用したアッセイと比較し、2 倍以上高感度であった。また、毒性の強いダイオキシン異性体に選択的に応答し、前処理した魚試料に対する添加回収率も良好であることから、食品などを対象にしたダイオキシン類のスクリーニング法として期待できた。

(2-2) 市販品 50 種のうち、AhR 活性を示した天然物濃縮加工食品(大豆、ゴマ、プロポリス抽出物を含有する 8 品目)の各分画物(ヘキサン、酢酸エチル、水分画)について AhR 活性を評価し、各活性本体を精査した。その結果、プロポリス抽出物含有試料ではヘキサン分画物に検出されたフラボン類の tectochrysin に強い AhR 活性が認められた。他の試料では酢酸エチル分画物に検出された大豆イソフラボンによる影響が示された。また未検討のフラボノイド 25 種について AhR 活性を検討したところ、一部のフラボノイド (3',4'-dimethoxyflavone、4,6,7-trihydroxyisoflavone、tamarixetin) に強い AhR 活性が認められ、特に tamarixetin の活性は顕著であつ

た。

(2-3) 食品中のダイオキシン類とPCBsを迅速かつ一斉に抽出し、系統的に分析できる方法を確認した。従来、PCBsとダイオキシン類は、個々の試験法によって定量分析が行われており、各々の分析法は工程が長く煩雑で、測定結果を得るまでに長期間を要することが課題であった。本迅速一斉分析法を使用すると、ダイオキシン類とPCBsの測定試料を1回の抽出操作で各々調製することができる。多検体の食品試料の分析を効率的に進めることが可能となり、当該物質による食品汚染度調査研究の推進、ならびに日常的検査業務の効率化に寄与すると考えられる。

(2-4) 魚介類中の4種類のベンゾトリアゾール類を測定するための、加熱流下式高速抽出、脂質等のKOH分解、分解物のヘキサソ抽出・水洗浄操作、NH₂カートリッジ精製、LC/MS/MS分析の最適条件を明らかにした。ここで開発した迅速測定法により、今後、多くの魚介類のベンゾトリアゾール類汚染の実態が明らかになると考えられる。

(3) 臭素系ダイオキシン類、PBDEs、PBBs及びCo-PXBsの前処理法を構築し、さらにHRGC/HRMS測定において、これらの臭素系化合物を1種類のカラムで測定することが可能となった。魚試料の汚染調査では、アナゴから臭素化ダイオキシンが微量に検出された。PBDEsはすべての魚から検出され、PBBsは16試料中14試料から4-6臭素化体の異性体が検出された。Co-PXBsはいずれの異性体も検出されなかった。マーケットバスケット方式による摂取量調査では、現在の臭素系ダイオキシン類及び関連化合物の食事からの摂取量は毒性学的に懸念を与える量ではないことが示唆された。その他の重要関連化合物であるTBBPA及びHBCDsの摂取量調査においても、現在の摂取量はただちに問題になるレベルではないと考えられた。

E. 研究業績

1. 論文発表

- 1) Hori T, Yasutake D, Tobiishi K, Ashizuka Y, Kajiwara J, Nakagawa R, Iida T, Tsutsumi T, Sasaki K. Comparison of accelerated solvent extraction and alkaline digestion-hexane shaking extraction for determination of dioxins in animal-origin food sample. *Organohalogen Compounds* 2007; 69: 1118-1121.
- 2) Murata S, Nakagawa R, Ashizuka Y, Hori T, Yasutake D, Tobiishi K, Sasaki K. Brominated flame retardants (HBCD, TBBPA and Σ PBDES) in market basket food samples of northern Kyushu district in Japan. *Organohalogen Compounds* 2007; 69: 1985-1988.
- 3) Tsutsumi T, Amakura Y, Tanno K, Yanagi T, Kono Y, Sasaki K, Maitani T. Dioxins and other organohalogen compounds in fish oil supplements on the Japanese market. *Organohalogen Compounds* 2007; 69: 2371-2374.
- 4) Ashizuka Y, Nakagawa R, Murata S, Yasutake D, Hori T, Horie M, Nishioka C, Takahashi T, Tamura I, Teshirogi T, Sasaki K. Daily intake of brominated dioxins and polybrominated diphenyl ethers estimated by market basket study. *Organohalogen Compounds* 2007; 69: 2769-2772.
- 5) Ashizuka Y, Nakagawa R, Hori T, Yasutake D, Tobiishi K, Sasaki K. Determination of brominated flame retardants and brominated dioxins in fish collected from three regions of Japan. *Mol. Nutr. Food Res.* 2008; 52: 273-283.
- 6) Tsutsumi T, Amakura Y, Ashieda K, Okuyama A, Tanioka Y, Sakata K, Kobayashi Y, Sasaki K, Maitani T. PCB 118 and aryl hydrocarbon receptor immunoassays for

screening dioxins in retail fish. J. Agric. Food Chem. 2008; 56: 2867-2874.

7) Tsutsumi T, Miyoshi N, Sasaki K, Maitani T. Biosensor immunoassay for the screening of dioxin-like polychlorinated biphenyls in retail fish. Anal. Chim. Acta. 2008; 617: 177-183.

8) Tsutsumi T, Amakura Y, Yanagi T, Kono Y, Nakamura M, Nomura T, Sasaki K, Maitani T, Matsuda R. Dietary exposure to dioxins in Japan: Nationwide total diet study 2002-2006. Organohalogen Compounds 2008; 70: 2313-2316.

9) Nakagawa R, Murata S, Ashizuka Y, Hori T, Yasutake D, Ujiie A, Sasaki K, Tsutsumi T. Hexabromo-cyclododecane in marine products collected from four regions of Japan. Organohalogen Compounds 2008; 70: 1900-1903.

10) Amakura Y, Tsutsumi T, Sasaki K, Nakamura M, Yoshida T, Maitani T. Influence of food polyphenols on aryl hydrocarbon receptor-signaling pathway estimated by in vitro bioassay. Phytochemistry 2008; 69: 3117-3130.

11) Amakura Y, Tsutsumi T, Tanno K, Nomura K, Yanagi T, Kono Y, Yoshimura M, Maitani T, Matsuda R, Yoshida T. Dioxin concentrations in commercial health tea materials in Japan. J. Health Sci. 2009; 55: 290-293.

12) Ashizuka Y, Yasutake D, Nakagawa R, Shintani Y, Hori T, Tsutsumi T. Determination of polybrominated dibenzo-*p*-dioxins, Co-PXBs and brominated flame retardant in fish. Organohalogen Compounds 2009; 71: 1251-1254.

13) Tsutsumi T, Ishizuka N, Denison MS, Watanabe T, Matsuda R. A new reporter gene assay for dioxins using green fluorescent protein: increased responsiveness using amplification of

the dioxins responsive element. Organohalogen Compounds 2009; 71: 1349-1352.

14) Hori T, Yasutake D, Ashizuka Y, Kajiwara J, Nakagawa R, Yoshimura T, Tsutsumi T. Simultaneous determination of dioxins and all PCB isomers in food samples using accelerated solvent extraction and gel permeation chromatography. Organohalogen Compounds 2009; 71: 2578-2582.

2.学会発表

1) 芦塚由紀, 中川礼子, 村田さつき, 堀 就英, 安武大輔, 堀江正一, 西岡千鶴, 高橋哲夫, 田村征男, 手代木年彦, 佐々木久美子: マーケットバスケット方式による臭素化ダイオキシン及び臭素化ジフェニルエーテルの摂取量調査. 第16回環境化学討論会 (2007.6).

2) 村田さつき, 芦塚由紀, 中川礼子, 堀 就英, 佐々木久美子: 食品の有機臭素系化合物分析とその汚染濃度. 第16回環境化学討論会 (2007.6).

3) 村田さつき, 芦塚由紀, 中川礼子, 堀 就英, 佐々木久美子: 食品中の臭素系難燃剤の分析. 第44回全国衛生化学技術協議会年会 (2007.11).

4) 堤 智昭, 天倉吉章, 柳 俊彦, 河野洋一, 中村宗知, 野村孝一, 内部博泰, 丹野憲二, 佐々木久美子, 米谷民雄: トータルダイエットスタディによるダイオキシン類摂取量調査～ここ数年間の全国調査結果について～. 第44回全国衛生化学技術協議会年会 (2007.11).

5) 中川礼子, 村田さつき, 芦塚由紀, 安武大輔, 堀 就英, 氏家愛子, 堤 智昭: 国内4地域で採取された魚介食品におけるヘキサブロモシクロドデカンの汚染について. 第17回環境化学討論会 (2008.6).

6) 天倉吉章, 堤 智昭, 中村昌文, 好村守生, 米谷民雄, 吉田隆志: 天然物濃縮加工食品の AhR 結合活性について. 日本生薬学

会第 55 年会 (2008. 9).

7) 堤 智昭, 天倉吉章, 柳 俊彦, 中村宗知, 河野洋一, 野村孝一, 堀 就英, 飛石和大, 芦塚由紀, 中川礼子, 飯田隆雄, 佐々木久美子, 豊田正武, 米谷民雄, 松田りえ子: 日本における市販食品のダイオキシン類汚染実態 ~厚生労働科学研究による調査結果のまとめ~. 第 45 回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11).

8) 芦塚由紀, 安武大輔, 中川礼子, 村田さつき, 堀 就英, 堤 智昭: 魚介類中の臭素化ダイオキシン類及びその関連化合物の分析. 第 45 回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11).

9) 堀 就英, 安武大輔, 中川礼子, 堤 智昭: 食品中ダイオキシン類・PCBs の一斉迅速分析法の検討—市販内部標準製品中の不純物の同定—. 第 45 回全国衛生化学技術協議会年会 (2008.11) .

10) 堤 智昭, 石塚菜穂子, 松田りえ子, Michael S.Denison: ダイオキシン類に対する高感度 CALUX バイオアッセイの開発—ダイオキシン類応答性領域を多数含むレポーターベクターを利用したアプローチ—. 第 11 回環境ホルモン学会 (2008.12)

11) 堤 智昭, 石塚菜穂子, 渡邊敬浩, 松田りえ子: 緑色蛍光タンパク質を用いたダイオキシン類に対する新規レポータージーンアッセイ. 第 18 回環境化学討論会 (2009.6) .

12) Amakura Y, Tsutsumi T, Nakamura M, Handa H, Yoshimura M, Matsuda R, Yoshida T.: Estimation of aryl hydrocarbon receptor binding activity of health food extracts using in vitro reporter gene assay. The 50th Anniversary Meeting of the American Society of Pharmacognosy (2009.9).

13) 堀 就英, 安武大輔, 中川礼子, 堤 智昭: 食品中ダイオキシン類及び PCBs 全異性体の迅速一斉分析法の検討. 第 46 回全国衛生化学技術協議会年会 (2009.11) .

14) 堤 智昭, 福沢栄太, 野村孝一, 柳 俊彦, 河野洋一, 米谷民雄, 渡邊敬浩, 松田り

え子: 食品からの有機フッ素化合物 (PFOA, PFOS) の摂取量調査. 第 46 回全国衛生化学技術協議会年会 (2009.11) .

15) 中川礼子, 新谷依子, 芦塚由紀, 堀 就英, 堀江正一, 田中之雄, 柿本健作, 堤 智昭: マーケットバスケット食品試料におけるヘキサブロモシクロドデカン (HBCDs) の分析法の検討とその 1 日摂取量の推定. 第 46 回全国衛生化学技術協議会年会 (2009.11) .

16) 芦塚由紀, 中川礼子, 安武大輔, 新谷依子, 堀 就英, 堀江正一, 田中之雄, 堤 智昭: 臭素系ダイオキシン類及びその関連化合物質のマーケットバスケット方式による摂取量調査. 第 46 回全国衛生化学技術協議会年会 (2009.11).

17) 堤 智昭: 食品からのダイオキシン類の摂取量調査. 第 7 回食品安全フォーラム (2009.11) .

18) 天倉吉章, 堤 智昭, 中村昌文, 半田洋士, 好村守生, 松田りえ子, 吉田隆志: 健康食品素材の AhR 結合活性について. 第 3 回食品薬学シンポジウム (2009.11) .

19) 天倉吉章, 堤 智昭, 中村昌文, 半田洋士, 好村守生, 松田りえ子, 吉田隆志: 天然物濃縮加工食品の AhR 結合活性と成分分析. 日本薬学会第 130 年会 (2010.3) .

3.その他

1) 食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン. 食安監発第 0228003 (2008.2) .

F.知的所有権の取得状況

なし

表 1 トータルダイエイト試料(1~14 群)からの塩素化ダイオキシン類一日摂取量(2005 TEF、ND=0)

| 食品群 | 平成19年度 | | | 平成20年度 | | | 平成21年度 | | |
|-------------------------------------|---------------------|-------|-------|-------------------|-------|-------|--------------------|-------|-------|
| | 平均摂取量(最小-最大) | 標準偏差 | 比率(%) | 平均摂取量(最小-最大) | 標準偏差 | 比率(%) | 平均摂取量(最小-最大) | 標準偏差 | 比率(%) |
| 1群(米、米加工品) | 0.00 | 0.01 | 0.0 | 0.00 | 0.00 | 0.0 | 0.00 | 0.00 | 0.0 |
| 2群(米以外の穀類、種実類、いも類) | 0.04 | 0.04 | 0.1 | 0.04 | 0.03 | 0.1 | 0.05 | 0.05 | 0.1 |
| 3群(砂糖類、菓子類) | 0.08 | 0.03 | 0.2 | 0.04 | 0.01 | 0.1 | 0.04 | 0.01 | 0.1 |
| 4群(油脂類) | 0.02 | 0.02 | 0.1 | 0.02 | 0.01 | 0.0 | 0.03 | 0.02 | 0.1 |
| 5群(豆・豆加工品) | 0.01 | 0.01 | 0.0 | 0.01 | 0.00 | 0.0 | 0.01 | 0.02 | 0.0 |
| 6群(果実、果汁) | 0.00 | 0.00 | 0.0 | 0.00 | 0.00 | 0.0 | 0.00 | 0.00 | 0.0 |
| 7群(緑黄色野菜) | 0.01 | 0.01 | 0.0 | 0.04 | 0.03 | 0.1 | 0.02 | 0.01 | 0.1 |
| 8群(他の野菜類、キノコ類、海藻類) | 0.03 | 0.02 | 0.1 | 0.05 | 0.05 | 0.1 | 0.05 | 0.05 | 0.1 |
| 9群(酒類、嗜好飲料) | 0.00 | 0.00 | 0.0 | 0.00 | 0.00 | 0.0 | 0.00 | 0.00 | 0.0 |
| 10群(魚介類) | 43.57 | 22.46 | 93.7 | 43.17 | 20.14 | 94.3 | 39.20 | 15.69 | 93.0 |
| 11群(肉類・卵類) | 1.70 | 1.78 | 3.6 | 1.98 | 3.19 | 4.3 | 1.99 | 3.18 | 4.7 |
| 12群(乳・乳製品) | 0.98 | 2.16 | 2.1 | 0.38 | 1.00 | 0.8 | 0.67 | 1.66 | 1.6 |
| 13群(調味料) | 0.06 | 0.03 | 0.1 | 0.04 | 0.03 | 0.1 | 0.06 | 0.03 | 0.1 |
| 14群(飲料水) | 0.00 | 0.00 | 0.0 | 0.00 | 0.00 | 0.0 | 0.00 | 0.00 | 0.0 |
| 総摂取量, pgTEQ/day | 46.51(17.41-125.32) | 22.74 | 100.0 | 45.76(6.65-94.92) | 20.98 | 100.0 | 42.14(13.91-74.27) | 17.21 | 100.0 |
| 総摂取量, pgTEQ/kg bw/day | 0.93(0.35-2.51) | 0.45 | | 0.92(0.13-1.90) | 0.42 | | 0.84(0.28-1.49) | 0.34 | |
| 10, 11, 12群を除く食品群からの摂取量 (pgTEQ/day) | 0.26 | | 0.6 | 0.23 | | 0.5 | 0.27 | | 0.6 |
| 10, 11, 12群からの摂取量 (pgTEQ/day) | 46.25 | | 99.4 | 45.53 | | 99.5 | 41.86 | | 99.4 |

表2 機関別塩素化ダイオキシン類一日摂取量の経年推移(平成10~21年度)¹⁾

| 地区 | PCDDs+PCDFs+Co-PCBs (pgTEQ/kgbw/day) ND=0 | | | | | | | | | | | | |
|--------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| | H10年度 | H11年度 | H12年度 | H13年度 | H14年度 | H15年度 | H16年度 | H17年度 | H18年度 | H19年度 | H20年度 | H21年度 | |
| 北海道地区 | A | 2.43 | 1.10 | 0.72 | 0.57 | 0.74 | 0.71 | 0.41 | 0.59 | 0.33 | 0.92 | 1.05 | 0.37 |
| | | | | | | 0.80 | 0.92 | 0.85 | 1.54 | 0.39 | 1.28 | 1.22 | 0.92 |
| 東北地区 | A | 1.10 | 1.27 | 0.95 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | B | - | 1.40 | 1.63 | 1.68 | 0.97 | 0.60 | 0.41 | 0.53 | 0.46 | 0.40 | 0.13 | 0.57 |
| | | | | | | 1.27 | 0.75 | 0.70 | 0.99 | 0.90 | 0.60 | 0.75 | 0.92 |
| | | | | | | 1.75 | 1.13 | 2.46 | 1.38 | 1.57 | 0.68 | 0.85 | 1.33 |
| 関東地区 | A | 1.84 | 3.33 | 1.10 | 0.88 | 1.26 | 0.67 | 1.42 | 0.47 | 0.51 | 0.68 | 0.48 | 0.28 |
| | | | | | | 1.66 | 1.63 | 1.49 | 0.76 | 0.81 | 0.89 | 1.24 | 0.48 |
| | | | | | | 2.30 | 2.55 | 1.64 | 1.11 | 1.28 | 1.12 | 1.70 | 0.69 |
| | B | 1.84 | 1.43 | 1.51 | 1.70 | 1.17 | 0.75 | - | - | - | - | - | - |
| | | | | | | 2.02 | 0.86 | - | - | - | - | - | - |
| | | | | | | 2.99 | 2.31 | - | - | - | - | - | - |
| 中部地区 | A | - | 1.35 | 1.23 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | B | 1.70 | 1.37 | 1.24 | 1.44 | 1.18 | 1.15 | 0.61 | 0.59 | 0.58 | 0.68 | 0.60 | 0.70 |
| | | | | | | 1.43 | 1.30 | 0.76 | 0.68 | 0.76 | 0.76 | 0.96 | 0.77 |
| | C | 1.75 | 2.08 | 1.50 | 1.32 | 0.52 | 0.49 | 0.52 | 0.40 | 0.40 | 0.35 | 0.63 | 0.36 |
| 関西地区 | A | - | 5.93 | 1.73 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | B | 2.29 | 1.55 | 1.22 | 1.12 | 0.83 | 0.67 | 1.14 | 0.58 | 0.86 | 0.64 | 0.57 | 0.63 |
| | | | | | | 1.18 | 0.98 | 1.62 | 0.70 | 1.32 | 0.82 | 0.61 | 0.97 |
| | | | | | | 2.36 | 1.38 | 1.95 | 1.23 | 1.54 | 1.08 | 1.16 | 1.14 |
| | C | - | 1.60 | 1.74 | 1.72 | 1.18 | - | - | - | - | - | - | - |
| | | | | | | 1.53 | - | - | - | - | - | - | - |
| 中国四国地区 | A | - | 3.06 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | B | - | - | 0.85 | 0.76 | 0.69 | 0.53 | - | - | - | - | - | - |
| | | | | | | 0.81 | 1.06 | - | - | - | - | - | - |
| | | | | | | 1.03 | 1.35 | - | - | - | - | - | - |
| | C | 1.07 | 1.26 | 1.23 | 1.36 | 0.63 | 0.90 | 1.06 | 1.01 | 0.82 | 0.67 | 0.61 | 0.59 |
| | | | | | | 1.32 | 1.31 | 1.20 | 1.34 | 0.92 | 0.90 | 0.64 | 0.81 |
| 九州地区 | A | 1.75 | 1.57 | 1.31 | 2.89 | 0.47 | 0.73 | 0.52 | 0.56 | 0.54 | 0.37 | 0.54 | 0.57 |
| | | | | | | 1.00 | 0.90 | 0.84 | 0.91 | 0.56 | 1.03 | 0.60 | 1.08 |
| | | | | | | 1.55 | 1.55 | 1.07 | 1.24 | 1.38 | 1.56 | 1.37 | 1.45 |
| | B | - | 1.04 | 0.72 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 平均 | 1.75 | 1.92 | 1.25 | 1.39 | 1.27 | 1.13 | 1.21 | 1.02 | 0.90 | 0.93 | 0.92 | 0.84 | |

1) 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16~18年度の摂取量は、平成18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。19年度及び20年度の摂取量は、平成19年及び20年度厚生労働科学研究費補助金研究事業「ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究」から引用した。全て2005 TEFを使用して算出した摂取量である。

表3 一般的な個別食品中の塩素化ダイオキシン類濃度(2005TEF, ND=0)

| 試料 | 試料数 | ダイオキシン類(pgTEQ/g) | | | | |
|------|-------|------------------|---------|----------|---------|----------|
| | | 平均値 | 中央値 | 最大値 | 最小値 | |
| 魚介類 | アジ | 3 | 0.37 | 0.36 | 0.49 | 0.25 |
| | アナゴ | 3 | 0.84 | 0.95 | 1.1 | 0.48 |
| | イカ | 5 | 0.092 | 0.011 | 0.37 | 0.00003 |
| | カツオ | 5 | 0.30 | 0.33 | 0.38 | 0.19 |
| | カニ | 3 | 0.037 | 0.038 | 0.041 | 0.031 |
| | サケ | 7 | 0.21 | 0.17 | 0.44 | 0.10 |
| | サバ | 3 | 1.3 | 1.6 | 1.6 | 0.67 |
| | サンマ | 5 | 0.16 | 0.13 | 0.30 | 0.11 |
| | タイ | 8 | 1.1 | 0.61 | 3.9 | 0.38 |
| | タコ | 5 | 0.15 | 0.12 | 0.27 | 0.00065 |
| | ブリ | 6 | 2.7 | 1.9 | 6.9 | 1.0 |
| | マス | 1 | 2.1 | 2.1 | 2.1 | 2.1 |
| | マグロ | 8 | 2.5 | 2.6 | 4.2 | 0.23 |
| | 畜産食品 | 牛肉 | 6 | 0.23 | 0.098 | 0.90 |
| 鶏肉 | | 6 | 0.012 | 0.0020 | 0.051 | 0.00042 |
| 豚肉 | | 6 | 0.0037 | 0.00065 | 0.018 | 0.0 |
| 鶏卵 | | 3 | 0.074 | 0.041 | 0.14 | 0.040 |
| 油脂 | オリーブ油 | 3 | 0.0076 | 0.0079 | 0.015 | 0.0 |
| | サラダ油 | 3 | 0.010 | 0.0019 | 0.028 | 0.00015 |
| | バター | 3 | 0.036 | 0.020 | 0.071 | 0.016 |
| 乳製品 | チーズ | 3 | 0.047 | 0.064 | 0.076 | 0.00042 |
| | 牛乳 | 3 | 0.00013 | 0.000090 | 0.00023 | 0.000060 |
| 嗜好飲料 | 茶 | 5 | 0.083 | 0.015 | 0.27 | 0.00020 |

表4 健康食品中の塩素化ダイオキシン類濃度(2005TEF, ND=0)

| 試料 | ダイオキシン類(pgTEQ/g) | | |
|------------|------------------|---------|--------|
| | PCDD/Fs | Co-PCBs | Total |
| 鮫肝油製品 | 9.4 | 32 | 41 |
| 鰯精製魚油製品 | 3.9 | 7.2 | 11 |
| 鮫肝油製品 | 1.5 | 7.4 | 8.9 |
| ヤツメウナギ油製品 | 1.1 | 7.7 | 8.7 |
| 鮫肝油製品 | 1.0 | 5.9 | 6.9 |
| マンボウ肝油製品 | 1.5 | 4.5 | 6.0 |
| 鮫肝油製品 | 0.87 | 4.7 | 5.5 |
| 鰯精製魚油製品 | 1.2 | 3.0 | 4.2 |
| 鮫肝油製品 | 0.81 | 3.0 | 3.8 |
| ヤツメウナギ油製品 | 0.51 | 1.2 | 1.7 |
| 魚油製品 | 0.10 | 1.1 | 1.2 |
| 鮫肝油製品 | 0 | 0.86 | 0.86 |
| 鮫肝油製品 | 0.0023 | 0.50 | 0.51 |
| 卵黄油製品 | 0.14 | 0.23 | 0.37 |
| 鮫肝油製品 | 0.028 | 0.30 | 0.33 |
| 鮫肝油製品 | 0.00012 | 0.25 | 0.25 |
| 卵黄油製品 | 0.051 | 0.073 | 0.12 |
| アザラン油製品 | 0.11 | 0.00036 | 0.11 |
| 卵黄油製品 | 0.027 | 0.084 | 0.11 |
| アザラン油製品 | 0.0010 | 0.092 | 0.093 |
| アザラン油製品 | 0.0020 | 0.085 | 0.087 |
| アザラン油製品 | 0.0013 | 0.081 | 0.083 |
| 卵黄油製品 | 0.0086 | 0.073 | 0.081 |
| 魚油製品 | 0.000090 | 0.073 | 0.073 |
| 卵黄油製品 | 0.0056 | 0.00072 | 0.0063 |
| 卵黄油製品 | 0.0029 | 0.00030 | 0.0032 |
| 卵黄油製品 | 0.0016 | 0.0013 | 0.0029 |
| 卵黄油製品 | 0.0028 | 0 | 0.0028 |
| 卵黄油製品 | 0.0024 | 0.00024 | 0.0027 |
| 魚油・アザラン油製品 | 0 | 0.0011 | 0.0011 |