

AhR activation (Figure 3). AhR-activated compounds identified in this study are reported as beneficial constituents. Also, they do not have accumulation characteristics such as the dioxin. Most recently, several papers reported that AhR activation may be involved in novel physiological functions.³⁾⁻⁶⁾ Therefore it is suggested that natural AhR ligands characterized in the present study may play some beneficial regulatory role in human.

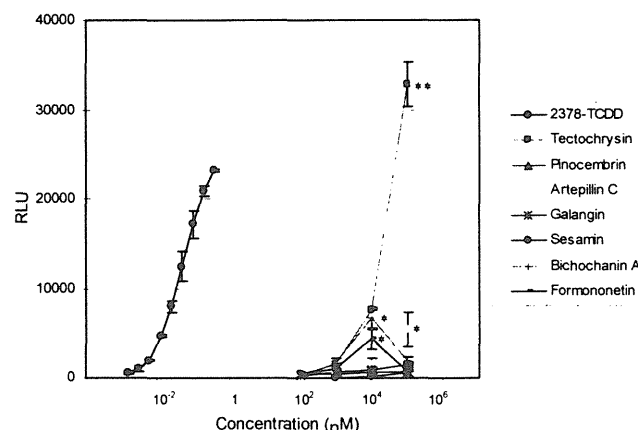


Figure 3. Concentration-response curve of selected compounds and TCDD for the induction of luciferase activity in the CALUX assay
Each point represents the mean of at least three replicate analyses. Results are expressed as means \pm SD, and asterisks indicate statistically significant differences (* p <0.05, ** p <0.01).

Acknowledgements

This work was supported in part by a Health and Labour Sciences Research Grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan, as well as Grants-in aid for Scientific Research (C) (No. 20500733).

References

1. Amakura Y, Tsutsumi T, Sasaki K, Nakamura M, Yoshida T, Maitani T. (2008); *Phytochemistry* 69: 3117-3130.
2. Tsutsumi T, Amakura Y, Nakamura M, Brown DJ, Clark GC, Sasaki K, Toyoda M, Maitani T. (2003); *Analyst* 128 : 486-492.
3. Veldhoen M, Hirota K, Westendorf AM, Buer J, Dumoutier L, Renauld J, Stockinger B. (2008); *Nature* 453: 106-110.
4. Quintana FJ, Basso AS, Iglesias AH, Korn T, Farez MF, Bettelli E, Caccamo M, Oukka M, Weiner HL. (2008); *Nature* 453: 65-71.
5. Kimura A, Naka T, Nohara K, Fujii-Kuriyama Y, Kishimoto T. (2008); *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*: 105: 9721-9726.
6. Kawajiri K, Kobayashi Y, Ohtake F, Ikuta T, Matsushima Y, Mumura J, Pettersson S, Pollenz RS, Sakaki T, Hirokawa T, Akiyama T, Kurosumi M, Poellinger L, Kato S, Fujii-Kuriyama Y. (2009); *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*: 106: 13481-13486.

The Measurement of Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls without Derivatization using a high-resolution gas chromatograph / high-resolution mass spectrometer

Daisuke Yasutake¹, Tsuguhide Hori¹, Yoichi Kurokawa¹, Jumboku Kajiwara¹,
Tomoaki Tsutsumi², Yoshiaki Amakura³

¹Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, 39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan;

²National Institute of Health Sciences, 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; ³Matsuyama University, 4-2, Bunkyo-cho, Matsuyama, Ehime 790-8578, Japan

Introduction

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are persistent and bioaccumulative substances, the usage and disposal of which were banned in 2004 under the Stockholm Convention because they are persistent organic pollutants. Recently, various kinds of PCB metabolites have been detected in the environment. Mainly, the PCB metabolites are formed by the metabolism by living organisms of PCBs in the environment. Hydroxylated PCBs (OH-PCBs) are well known as metabolites of PCBs. OH-PCBs show a high affinity for thyroid hormone transport protein in the human blood, resulting in a reduced quantity of thyroid hormone. OH-PCBs have been detected in the blood and tissues of humans and several wildlife species and in environmental media.

In general, hydroxyl groups of OH-PCBs are derivatized to methoxy groups, OH-PCBs are measured using a high-resolution gas chromatograph / high-resolution mass spectrometer (HRGC/HRMS) as methoxylated PCBs (OMe-PCBs). However, the reaction efficiency of the derivatization depends on the substitution position of the hydroxyl group and the number of chlorine atoms. Moreover, because the stability of the reaction affects the measurement accuracy, it is desirable to measure OH-PCBs without derivatization. Our goal is to develop an analytical method for measuring the concentration of OH-PCBs in foods. In this study, we sought to determine which capillary column was most suitable for the measurement of OH-PCBs without derivatization using HRGC/HRMS.

Materials and methods

Chemicals

The standard solutions of 38 kinds of OH-PCB and 7 kinds of OMe-PCB were purchased from Accustandard, Inc. (CT, USA). The OH-PCBs standard for the evaluation of capillary columns and the labeled PCBs standard for the internal standard were purchased from the Wellington Laboratories, Inc. (ON, Canada). These standard solutions are listed in Table 1.

HRGC/HRMS

Identification of OH-PCBs and OMe-PCBs was performed using HRGC/HRMS (Agilent Technology, USA, 6890 series /Waters, UK, Autospec-Ultima) above 10,000 resolution.

Table 1 List of the standard solutions

The standard solution of 38 kinds of OH-PCB	
6-OH-CB2	3'-OH-CB65
4-OH-CB1	4'-OH-CB50
4-OH-CB2	4'-OH-CB61
4'-OH-CB3	4'-OH-CB69
2'-OH-CB9	4'-OH-CB72
3'-OH-CB9	4'-OH-CB65
4'-OH-CB9	6'-OH-CB106
4-OH-CB14	6'-OH-CB112
2'-OH-CB5	4'-OH-CB86
2'-OH-CB12	4'-OH-CB93
2'-OH-CB30	4'-OH-CB106
6'-OH-CB18	4'-OH-CB112
3'-OH-CB30	4'-OH-CB121
4'-OH-CB26	3'-OH-CB101
4'-OH-CB30	4'-OH-CB101
2'-OH-CB61	6'-OH-CB101
2'-OH-CB65	4'-OH-CB159
6'-OH-CB69	4'-OH-CB165
3'-OH-CB61	4'-OH-CB172
The standard solution of 7 kinds of OMe-PCB	
4'-OMe-CB3	4'-OMe-CB101
4'-OMe-CB9	4'-OMe-CB159
4'-OMe-CB26	4'-OMe-CB172
4'-OMe-CB72	
The OH-PCBs standard solution for the evaluation of capillary column	
4-OH-CB#54	4-OH-CB#146
4'-OH-CB#104	4-OH-CB#187
4-OH-CB#107	4'-OH-CB#172
3'-OH-CB#138	
The internal standard solution	
13C ₁₂ -PCB#70	13C ₁₂ -PCB#138
13C ₁₂ -PCB#111	13C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HxCDF

Results and discussion

Investigation of the capillary column in OH-PCBs (non-derivatization) measurement

We evaluated 19 kinds of capillary column for OH-PCBs measurement. The OH-PCBs standard solution for the evaluation of the capillary columns, shown on Table 1, was measured under the GC/MS conditions shown in Table 2. Using the chromatograms for 19 kinds of capillary column, we evaluated each column's suitability for OH-PCBs measurement from the following three viewpoints: (i) each isomer was detected as a peak, (ii) the shape of the peak was symmetric, (iii) the peak was quantifiable. Table 3 shows the list of 19 kinds of capillary column and the evaluation results. Figure 1 shows typical examples of OH-PCB chromatograms. In the stationary phases of each capillary column, the increase in the number of chlorine atoms of OH-PCBs caused a peak tailing, like the chromatogram of DB5 (length 15m, i.d. 0.25 mm, 0.10 μm thickness) in Fig. 1. However, when the number of chlorine atoms of a PCB decreased in HP5 (length 15 m, i.d. 0.32 mm, 0.25 μm thickness), the peak tailing was also caused. The phenomenon of that peak tailing showed an opposite tendency compared with the peak tailing of other capillary columns. The OH-PCB measurements were difficult in DB5, HP5, DB5MS and ENV5MS, where a stationary phase occurred with (5%-phenyl)-methylpolysiloxane. The peak shapes were good in the chromatogram of SLB5MS, as shown in Fig. 1, but slight tailing existed. Therefore, OH-PCBs were quantifiable in HP5MS, VF5MS and VF5ht, as shown in Table 3 and Fig.1, and those capillary columns were used for the OH-PCB measurements without derivatization.

Table 2 GC/MS condition

		GC/MS condition
Injection Temperature		280 °C
Injection Method		Splitless
Injection Volume		1 μL
Carrier for He		1.3 mL/min
Oven		120°C(1min)→10°C/min→310°C
Ion Source Temperature		270 °C
Transfer Temperature		280 °C
Ion Monitoring	OH-TetraCB	307.9143
	OH-PentaCB	341.8754
	OH-HexaCB	375.8364
	OH-HeptaCB	409.7974

The confirmation of elution orders of OH-PCBs and OMe-PCBs in the VF5MS capillary column

In the VF5MS capillary column (length 30, i.d. 0.25 mm, 0.10 μm thickness), 38 kinds of OH-PCBs listed in Table 1 were measured with the GC/MS measurement conditions shown in Table 2. Figure 2 shows the chromatogram of OH-PCBs in VF5MS, and the elution order of 38 OH-PCB isomers in that column was confirmed. Using dimethyl sulfate¹, we derivatized 38 OH-PCB isomers to OMe-PCBs. The derivatized OMe-PCBs were measured under the same GC conditions as those for the OH-PCBs measurement. Figure 3 shows the chromatogram of OMe-PCBs in VF5MS, and the elution order of 38 OMe-PCB isomers in that column was confirmed.

Comparison of sensitivity of OH-PCB and OMe-PCB

The standard solution of 0.2 ng/mL of OH-PCBs and of 0.2 ng/mL of OMe-PCBs including the internal standard solution of 10 ng/mL shown in Table 1 were measured with GC/MS to calculate the minimum limit of detection for the apparatus. Table 4 shows the minimum limit of detection for the apparatus in each isomer of OH-PCBs and OMe-PCBs. When we compared the sensitivity of the OH-PCB with that of the OMe-PCB in the same PCB skeleton, we found that the sensitivities of the OH-PCB were high in the skeleton of PCB26 and the PCB72. The sensitivity of OH-PCB was equal to that of OMe-PCB in the skeleton of PCB101. In the skeletons of PCB3, PCB9, PCB159 and PCB172, the sensitivities of OMe-PCB were higher than that of OH-PCB. In particular, we noted that the sensitivity of 4'-OMe-CB172 was five times as high as that of 4'-OH-CB172. On the whole, the sensitivities of OMe-PCBs tended to be higher than that of OH-PCBs; however, the derivatization of OH-PCBs to OMe-PCBs led to a decline in sensitivity of the measuring method and increased measurement errors, considering the reactive efficiency and the reactive reproducibility of the derivatization¹. Therefore, we concluded that the OH-PCBs measurement without derivatization has greater sensitivity, accuracy and measurement time than that with derivatization.

Acknowledgements

This work was supported by a Science Research Grant from the Ministry of Health, Welfare and Labor of Japan.

Reference

1. Matsumoto K., Iseki N., Kameda H., Kashima Y., Shiozaki T.(2006); Bulletin of JESC,33,49-54 (in Japanese)

Table 3 The list of 19 kinds of capillary column and the evaluation results.

Capillary Column	Length (m)	I.D. (mm)	Film Thickness (μm)	Stationary phase	Manufacturer	Evaluation results			Remark
						Peak detection	Peak shape	Quantifiable peak	
DB1	30	0.32	0.1	100% Dimethylpolysiloxane	Agilent Technologies	x	x	x	All undetectable
DB5	15	0.25	0.1	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	Δ	x	x	With increase of the number of chlorine atoms, some tailings exists.
DB5	30	0.25	0.1	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	O	Δ	x	With increase of the number of chlorine atoms, some tailings exists.
DB5	30	0.25	0.25	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	x	x	x	All undetectable
DB5	30	0.32	0.1	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	Δ	x	x	Undetectable
HP5	15	0.32	0.25	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	O	Δ	x	With increase of the number of chlorine atoms, some tailings exists.
HP5	30	0.32	0.25	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	O	Δ	x	With <i>decrease</i> of the number of chlorine atoms, some tailings exists.
DB5MS	30	0.32	0.25	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	Δ	x	x	Undetectable
HP5MS	30	0.25	0.25	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	O	O	O	Quantifiable
HP5MS	15	0.25	0.1	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	O	O	O	Quantifiable
SLB5MS	30	0.25	0.1	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Supelco	O	O	Δ	Some tailings exists in OH-heptaCBs
SLB5MS	30	0.25	1.0	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Supelco	O	O	x	With increase of the number of chlorine atoms, some tailings exists.
ENV5MS	30	0.25	0.1	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Kanto Chemical	x	x	x	With increase of the number of chlorine atoms, some tailings exists.
VF5MS	30	0.25	0.1	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	O	O	O	Quantifiable
VF5ht	30	0.25	0.1	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	O	O	O	Quantifiable
VF5ht	15	0.32	0.1	(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	O	O	O	Quantifiable
DB17	30	0.25	0.25	(50%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Agilent Technologies	O	Δ	x	With increase of the number of chlorine atoms, some tailings exists.
007-65HT	25	0.25	0.1	(65%-Phenyl)-methylpolysiloxane	Quadrex	O	Δ	x	With increase of the number of chlorine atoms, some tailings exists.
WAX10	15	0.25	0.25	Polyethylene Glycol	Supelco	Δ	Δ	x	With increase of the number of chlorine atoms, some tailings exists. The measurement time is long because the use temperature of the column is limited

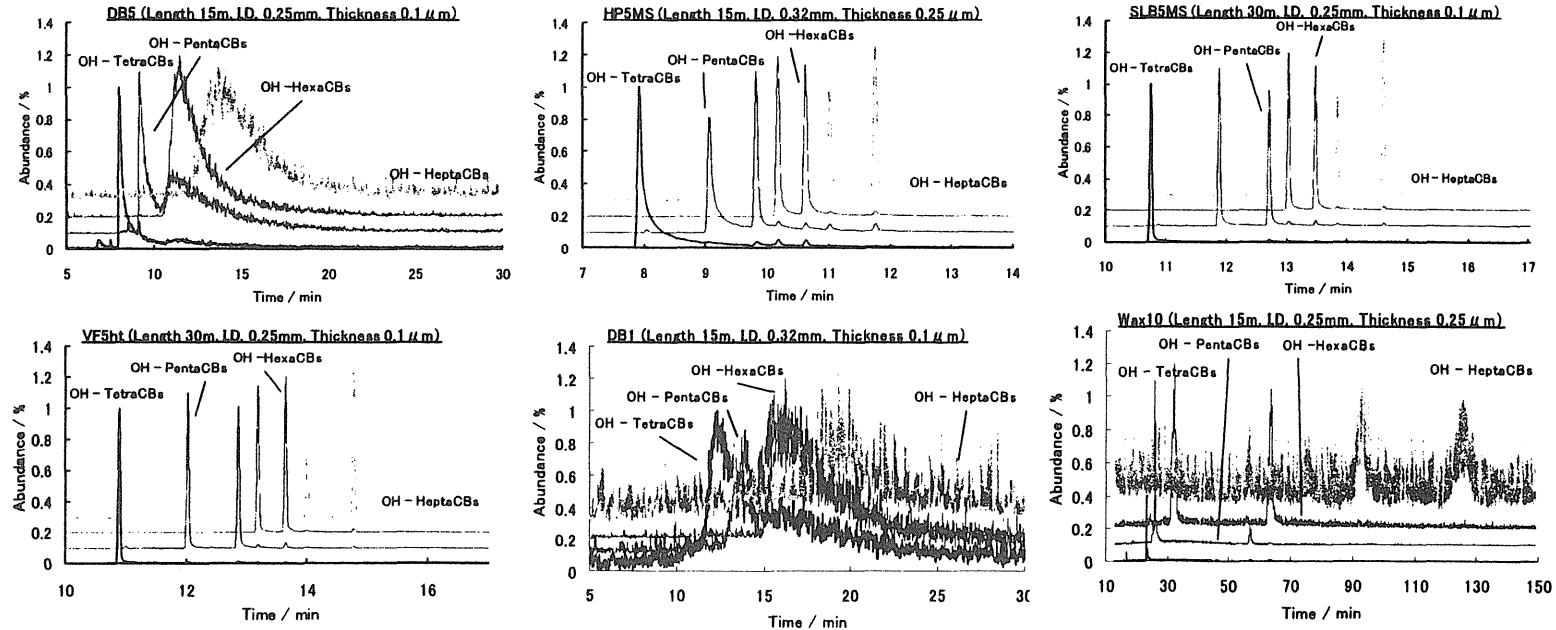


Fig. 1 Typical examples of OH-PCB chromatograms

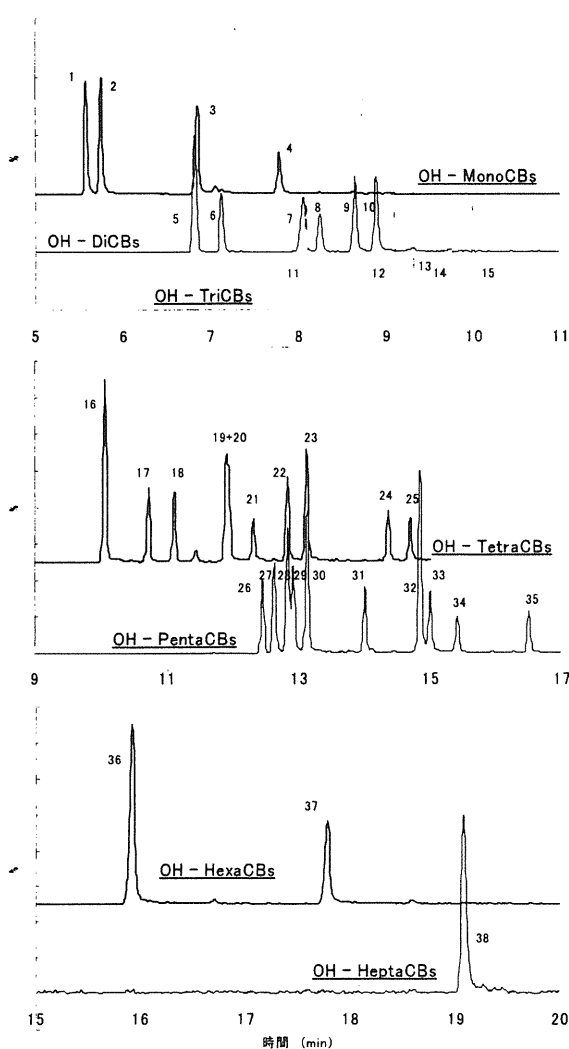


Fig. 2 The chromatogram of OH-PCBs in VF5MS

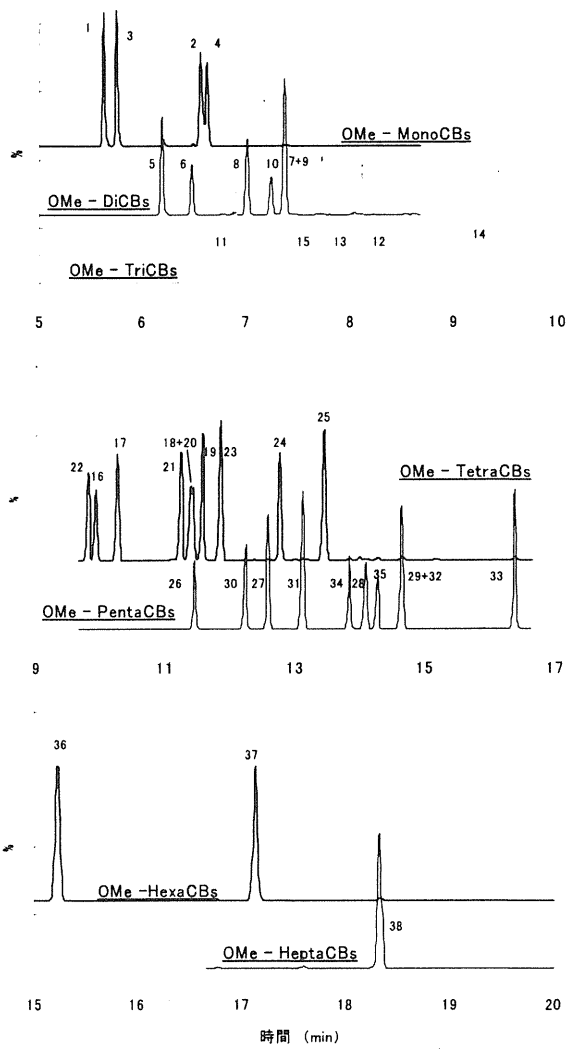


Fig. 3 The chromatogram of OMe-PCBs in VF5MS

Peak Number	OA'-PCBs	Peak Number	OA'-PCBs	Peak Number	OA'-PCBs	Peak Number	OA'-PCBs	Peak Number	OA'-PCBs	Peak Number	OA'-PCBs	Peak Number	OA'-PCBs
1	6-OA-CB2	7	4-OA-CB14	13	6'-OA-CB18	19	4'-OA-CB72	24	3'-OA-CB61	29	4'-OA-CB101	34	6'-OA-CB106
2	4-OA-CB2	8	2'-OA-CB12	14	4'-OA-CB18	20	4'-OA-CB50	25	4'-OA-CB61	30	4'-OA-CB112	35	4'-OA-CB86
3	4-OA-CB1	9	3'-OA-CB9	15	4'-OA-CB30	21	2'-OA-CB61	26	6'-OA-CB101	31	6'-OA-CB112	36	4'-OA-CB165
4	4'-OA-CB3	10	4'-OA-CB9	16	4'-OA-CB69	22	3'-OA-CB65	27	3'-OA-CB101	32	4'-OA-CB106	37	4'-OA-CB159
5	2'-OA-CB9	11	2'-OA-CB30	17	6'-OA-CB69	23	4'-OA-CB65	28	4'-OA-CB121	33	4'-OA-CB93	38	4'-OA-CB172
6	2'-OA-CB5	12	4'-OA-CB26	18	2'-OA-CB65								

*A: H (Hydrogen) or Me (methyl)

Table 4 The minimum limit of detection for the apparatus in each isomer of OH-PCBs and OMe-PCBs

PCB skeleton	Hydroxide	The minimum limit of detection	Methoxide	The minimum limit of detection
MonoCB	4'-OH-CB3	0.04	4'-OMe-CB3	0.02
DiCB	4'-OH-CB9	0.08	4'-OMe-CB9	0.02
TriCB	4'-OH-CB26	0.03	4'-OMe-CB26	0.05
TetraCB	4'-OH-CB72	0.02	4'-OMe-CB72	0.04
PentaCB	4'-OH-CB101	0.05	4'-OMe-CB101	0.04
HexaCB	4'-OH-CB159	0.08	4'-OMe-CB159	0.04
HeptaCB	4'-OH-CB172	0.2	4'-OMe-CB172	0.04

(pg)

IMPROVEMENT OF METHODS FOR ANALYZING BROMINATED FLAME RETARDANT IN FOOD

Ashizuka Y¹, Yasutake D¹, Nakagawa R¹, Shintani Y¹, Hori T¹, Tsutsumi T², Matsuda R²

¹Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, 39 Mukaizano, Dazaifu-shi, Fukuoka, Japan;

²National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo, Japan

Introduction

Brominated flame retardants (BFRs), such as polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polybrominated biphenyls (PBBs), have been widely used in plastics and textile coatings throughout the world. The major commercial products made with the PBDEs primarily used are penta-BDE, octa-BDE and deca-BDE (DeBDE). In Japan, although the use of low-brominated PBDEs has decreased, DeBDE is currently in use. PBDEs are additives to polymers such as polystyrene and are not chemically bound to the polymer. Therefore, they are easily released into the environment from waste products. It is predicted that, in Japan, the amount of waste Br from the plastics used in electrical appliances will increase until at least 2020 due to the increasing size of TV sets there¹. This prediction suggests an urgent need to monitor these brominated compounds and to manage them in waste. For PBBs, the commercial products are mixtures containing hexa-BB, octa-BB, nona-BB and deca-BB. Products made with PBBs have not been produced in Japan, but PBBs have been detected in environment samples². It is suspected that the contaminant came from imported products or impurities in other BFRs. Decabromodiphenyl ethane (DBDPE) and bis(2,4,6-tribromophenoxy)ethane (BTBPE) are relatively new brominated flame retardants that came to market in the 1990s as alternatives to DeBDE. There is very little information about their toxicity or contamination levels.

In relation to BFRs, it is problematic that *de novo* synthetic compounds, such as polybrominated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans (PBDD/DFs) and coplanar polychlorinated/brominated biphenyls (Co-PXBs) have been found in market fish^{3,4} and human samples^{5,6}. Co-PXBs may also be formed from BFRs and have toxicity levels similar to those of Co-PCBs due to their structural similarities.

It is important to investigate the levels of these brominated organic compounds in foods and to estimate their effects on humans. In our previous study, we developed a method for simultaneously analyzing PBDEs and brominated dioxins⁷, and we analyzed brominated dioxins, PBDEs, Co-PXBs and PBBs in fish samples and market basket samples in Japan^{8,9}. In the present study, we examined instrumental and sample cleanup conditions, aiming to improve the simultaneous-analysis method for brominated compounds including newly BFRs such as DBDPE and BTBPE.

Materials and Methods

Chemicals

DBDPE, BTBPE and PBDE analytical standards were purchased from Wellington Laboratories (Guelph, ON, Canada). The PBB analytical standards were purchased from Wellington Laboratories and AccuStandard (New Haven, CT, USA). Dichloromethane, *n*-hexane and toluene used for extraction and cleanup were of dioxins analysis grade (Kanto Chemical, Tokyo, Japan). Acetonitrile was PR grade and was purchased from Wako Pure Chemical Industries (Osaka, Japan). DMSO was dioxins analysis grade (Kanto Chemical). Silica gel (Wako Pure Chemical Industries) was heated for 3 h at 130°C. Florisil (Kanto Chemical) was heated for 3 h at 130°C and deactivated with 1% water. A sulfoxide cartridge column (6 g, 20 g glassware) was purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Analytical Methods and Instrumentation.

The concentrations of DBDPE, BTBPE, PBDEs, Co-PXBs and PBBs were determined using high-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (HRGC/HRMS). The analytical conditions of HRGC/HRMS are shown in Table 1.

HRGC/HRMS analysis was performed on a Micromass Autospec Ultima (Waters, Milford, MA, USA) connected to an HP6890 GC (Agilent). Further, we examined the analytical conditions of DBDPE, BTBPE and PBDEs using a model 1200 GC/MS/MS (Varian, Palo Alto, CA, USA).

Sample Preparation.

The analytical method for the brominated compounds was as follows. Each 50 g sample was frozen dried using a model AD 2.0ES-BC (VirTis, Warminster, PA, USA) freeze dryer. Dried samples were extracted with 10% (v/v) dichloromethane/*n*-hexane by an accelerated solvent extractor ASE300 (Dionex, Sunnyvale, CA, USA). The extraction temperature was 100°C; the time was 10 min. Extracts were treated with sulfuric acid three times and applied to a silica gel column. The column was prewashed with 100ml *n*-hexane, and brominated compounds were eluted with 150 ml of 10% (v/v) dichloromethane/*n*-hexane. The eluate was evaporated and dissolved in 1 mL of *n*-hexane and treated with a sulfoxide cartridge column to remove the matrix. The eluted fraction was concentrated to a final volume of approximately 25 µl, and the samples were analyzed by HRGC/HRMS.

Partitioning with Acetonitrile/n-Hexane.

Two milliliters of acetonitrile (*n*-hexane-saturated) was added to 1 ml of sample solution and shaken vigorously. After the hexane layer was separated from the acetonitrile layer, the latter was collected in another tube. Thus, sample solution was extracted with 2 ml of acetonitrile three times. Then, 30 ml of water was added to 6 ml of the acetonitrile layer and extracted with 5 ml of hexane three times. After 15 ml of the collected hexane layer was dried on anhydrous sodium sulfate, the dried hexane layer was concentrated to a final volume.

Partitioning with DMSO/n-Hexane.

Two milliliters of DMSO (*n*-hexane-saturated) was added to 1 ml of sample solution and shaken vigorously. After the hexane layer was separated from the DMSO layer, the DMSO latter was collected in another tube. The operation after this was the same as in the case of partitioning with acetonitrile/*n*-hexane.

Table 1 Analytical conditions of HRGC/HRMS

	Column	Injection temp.	Injection type /volume	Oven temp.	HRMS conditions
DBDPE BTBPE	DB-5 (Agilent) 15 m, 0.25 mm (i.d.), 0.1 µm film	260°C	Splitless 1 µl	100°C - (20°C/min) - 200°C - (10°C/min) 320°C (7 min)	Electron energy 38 eV Filament current 750 µA
PBDEs	DB-5 (Agilent) 15 m, 0.25 mm (i.d.), 0.1 µm film	260°C	Splitless 1 µl	100°C - (20°C/min) - 200°C - (10°C/min) 320°C (7 min)	Ion source temp. 270°C Resolution 10,000
PBBs Co-PXBs	DB-5 (Agilent) 15 m, 0.25 mm (i.d.), 0.1 µm film	280°C	Splitless 1 µl	130°C(1 min) - (20°C /min) - 170°C(10 min) - (4°C/min) - 210°C - (10°C/min) - 300°C (3 min)	

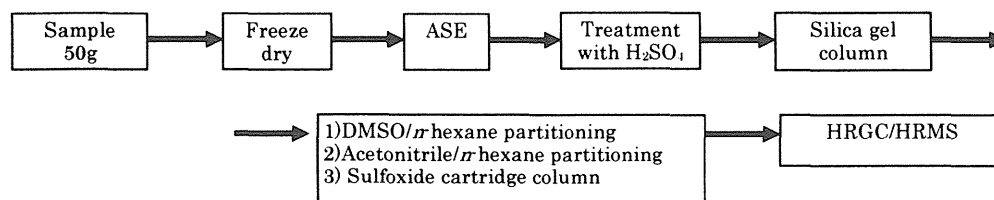


Figure 1. Analytical flow of BFRs (PBDEs, PBBs, DBDPE and BTBPE)

Sulfoxide Column.

A sulfoxide column (6 g, 20 mL, glass) was prewashed with 20 mL of acetone and 20 mL of *n*-hexane. After prewashing, 1 mL of sample solution (*n*-hexane solution) was loaded. The column was washed with 12 mL of *n*-hexane. In the next step, the fraction of target brominated compounds was eluted with 25 mL of 50% (v/v) acetone/*n*-hexane. The elute was concentrated to a final volume.

Results and Discussion

We have already measured PBDEs, PBBs and Co-PXBs in fish and other food samples using HRGC/HRMS⁸⁾⁹⁾. In this study, we examined the instrumental condition of brominated compounds including newly BFRs such as DBDPE and BTBPE. We measured DBDPE and BTBPE using a 15 m x 0.25 mm, 0.1 μ m film thickness, DB-5 column. The LOD (Limits of Detection) of DBDPE and BTBPE on HRGC/HRMS were approximately 1 pg. Figure 2 shows HRGC/HRMS chromatograms of DBDPE and BTBPE standards. In addition to congeners of PBDE and PBBs, it is possible to determine DBDPE and BTBPE using only one kind of column, the 15 m DB-5. Further, we examined DBDPE and BTBPE measurement conditions using GC/MS/MS. The detectable molecular weight of Varian model 1200 GC/MS/MS was below 800. We used monitor ions, which were 486 > 406 and 486 > 327 for DBDPE and 364 > 284 and 364 > 278 for BTBPE. The peak intensities of DBDPE and BTBPE on GC/MS/MS were high. However, it seems that more studies are needed in order to determine the GC/MS/MS measurement conditions, because the low-concentration standard had low intensity.

Table 2 shows the recoveries of PBDEs, DBDPE and BTBPE in the cleanup step of column or liquid-liquid partitioning. For the silica gel column, the recoveries of all of the congeners were in the range of 60%-120% using 10% (v/v) dichloromethane/*n*-hexane. For the Florisil column, although PBDEs and DBDPE were eluted in the first fraction, BTBPE was eluted in the second fraction, the same as brominated dioxins. When brominated dioxins are measured, it is better to use a Florisil column after silica gel column cleanup to separate PBDEs from the brominated dioxin fraction, because PBDEs affects the peaks of brominated dioxins. However, when we measure only BFRs (PBDEs, PBBs, DBDPE and BTBPE) without measuring brominated dioxins, it seems unnecessary to use a Florisil column after the silica gel column. Instead, for the step after silica gel column, further cleanup to remove fat is needed for the analysis of fatty food such as fish or meat.

Iwamura et al.¹⁰⁾ reported the application of a sulfoxide cartridge column for PBDE analysis in biological and sediment samples. We examined three purification steps: partitioning with acetonitrile/*n*-hexane, partitioning with DMSO/*n*-hexane and the application of a sulfoxide cartridge column (Table 2). Although satisfactory recoveries (40%-120%) were obtained in each step, use of the sulfoxide cartridge column was the easiest and fastest step. We thus decided to use sulfoxide column cleanup. This method, combining silica gel and sulfoxide cartridge columns, we analyzed DBDPE and BTBPE in three fish samples. BTBPE was not detected in any of the samples, but DBDPE was detected at 6.38 pg/g wet weight (ww) in karei and 5.86 pg/g ww in anago. The recoveries of surrogates were in the range of 40%-120%, so this method is acceptable for determining the concentrations of newly BFRs. These results show that the improved method is an effective cleanup method for measuring BFRs in food samples. We could perform the rapid and effective analysis for determination of BFRs, including DBDPE and BTBPE. This method would be useful for purifying foods that contain a lot of matrix, such as fish or meat.

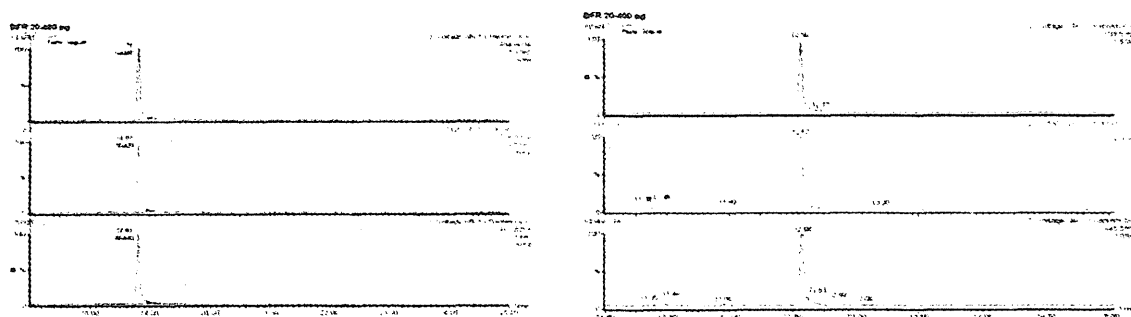


Figure 2. HRGC/HRMS chromatograms of DBDPE and BTBPE standards

Table 2. Recoveries of brominated compounds on purification (%)

	Silica gel column ¹⁾	Florisil column ²⁾		DMSO/ <i>n</i> -hexane	Acetonitrile/ <i>n</i> -hexane	Sulfoxide column
		1	2			
2,2',4-TriBDE(#28)	75.4	77.8	0.2	88.6	88.2	90.4
2,2',4,4'-TeBDE(#47)	78.7	75.9	0.3	88.3	86.8	86.6
3,3',4,4'-TeBDE(#77)	81.6	75.6	0.7	92.5	88.2	88.5
2,2',4,4',6-PeBDE(#100)	113.6	110.9	0.7	97.7	92.3	94.6
2,2',4,4',5-PeBDE(#99)	99.3	106.4	0.8	100.8	94.4	98.8
3,3',4,4',5-PeBDE(#126)	104.7	91.3	1.0	106.9	92.9	107.0
2,2',4,4',5,6'-HxBDE(#154)	85.2	84.4	0.3	90.7	79.7	95.8
2,2',4,4',5,5'-HxBDE(#153)	92.7	85.5	3.2	97.2	83.5	94.4
3,3',4,4',5,5'-HxBDE(#169)	95.7	86.4	1.1	94.9	77.0	103.4
2,2',3,4,4',5',6'-HpBDE(#183)	102.5	98.6	0.6	104.0	86.9	88.2
2,2',3,3',4,4',6,6'-OcBDE(#197)	111.6	112.7	0.5	91.1	90.7	103.2
2,3,3',4,4',5,5',6-OcBDE(#205)	99.1	101.0	3.2	85.4	93.4	119.4
2,2',3,3',4,4',5,6,6'-NoBDE(#207)	90.7	78.0	0.1	101.1	80.2	102.9
DeBDE(#209)	96.2	83.7	0.1	86.7	71.8	101.0
DBDPE	63.9	67.7	3.1	56.3	53.3	40.2
BTBPE	94.4	0	121.5	92.8	90.9	82.6

1) The column was prewashed with 100ml *n*-hexane, and brominated compounds were eluted with 150ml of 10% (v/v) dichloromethane / *n*-hexane.

2) The first fraction (fraction 1) was obtained by elution with 150 ml of *n*-hexane, and the second fraction was obtained by elution with 200 ml of 60% (v/v) dichloromethane/*n*-hexane (fraction 2).

Acknowledgement

This study was supported by a grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

References

1. Tasaki T, Takasuga T, Osako M, Sakai S. (2004); *Waste Manage.* 24(6): 571-80
2. Ishikawa Y, Nose K, Suzuki G, Takigami H, Noma Y, Sakai S. (2004); *Organohalogen Comp.* 68: 1776-9
3. Ohta S, Tokusawa H, Nakao T, Aozasa O, Miyata H, Alae M. (2008); *Chemosphere* 73(1): S31-8
4. Ashizuka Y, Nakagawa R, Hori T, Yasutake D, Tobiishi K, Sasaki K. (2008); *Mol.Nutr. Food Res.*: 52(2): 273-83
5. Choi J. W, Fujimaki S, Kitamura K, Hashimoto S, Ito H, Suzuki N, Sakai S, Morita M. (2003); *Environ. Sci. Technol.* 37(5): 817
6. Ohta S, Tokusawa H, Magota H, Nakao T, Aozasa O, Miyata H, Ochiai T, Shimizu Y. (2007); *Organohalogen Comp.* 69: 2018-21
7. Ashizuka Y, Nakagawa R, Tobiishi K, Hori T, Iida. T. (2005); *J Agric Food Chem.* 53(10): 3907-813
8. Ashizuka Y, Yasutake D, Nakagawa R, Shintani Y, Hori T, Tsutsumi T. (2009); *Organohalogen Comp.* 71: 1268-71
9. Ashizuka Y, Nakagawa R, Yasutake D, Shintani Y, Hori T, Horie M, Tanaka Y, Tsutsumi T. (2010); *BFR2010*: P34
10. Iwamura T, Jinya D, Kadokami K. (2009); *Journal of Environmental Chemistry*; 19(4):527-35

食品からの有害物質摂取量推定とその意義

松田りえ子

Rieko MATSUDA
国立医薬品食品衛生研究所食品部長

渡邊敬浩

Takahiro WATANABE
国立医薬品食品衛生研究所食品部室長



1 はじめに

食品中には多くの有害物質が存在しており、これらの摂取による健康リスクを管理する目的で、種々の施策が国によって実施されている。リスク管理施策の1つとして、食品中の残留上限を示す基準値の設定がある。あるいは、その有害物質の使用を禁止する、発生源が明らかな場合は低減措置を講ずるといったことも、リスク管理施策として実行される。これらの施策の実施の必要性を決定するためには、その有害物質による健康へのリスクを評価する必要がある。評価に用いる科学的エビデンスとなるデータを提供するのが、食品からの有害物質摂取量推定である。

本稿では、食品からの有害物質摂取量推定の手法、国立医薬品食品衛生研究所食品部で摂取量を推定した有害物質の例を中心として紹介すると共に、有害物質摂取量推定の意義を解説する。

2 食品からの有害物質摂取量推定の目的

食品からの有害物質摂取量を推定する大きな目的は、施策決定の根拠となる、つまり何らかの施策を採るべきかどうかを決めるためのデータの収集である。ある化学物質による健康危害が起こる可能性はその化学物質の毒性だけではなく、実際にどのくらい摂取されるかも重要である。通常の商品には非常に微量しか含まれていなければ、健康へのリスクは非常に低く、規制等の施策を実施する必要はない。逆に、多くの食品に含まれていて摂取量が多く、健康へのリスクが高ければ、早急に何らかの施策を講じる必要がある。

もう1つの目的は、実施した施策の効果の検証で

ある。施策の実施により、その化学物質の摂取量が減少すれば、その施策が有効であったと評価できる。減少が見られない、あるいは増加していれば、その施策の効果はないということになり、より効果の高い施策を実施しなくてはならない。この観点から、施策実施後も、ある程度の期間摂取量推定を継続して実施していく必要がある。

3 摂取量推定の方法

摂取量推定方法の1つは、トータルダイエツト研究である。トータルダイエツト研究では、マーケットバスケット(MB)方式と陰膳方式が代表的である。どちらの方式でも、1日分の食事を作り、これを混合・均質化した試料中の有害物質濃度を明らかにし、食事量を掛けて1日の摂取量を推定することを基本とする。

厚生労働省が毎年実施している国民健康・栄養調査では、3,000世帯以上に依頼して、1日に食べた食品すべての重量を調査票に記入していただいている。このデータを集計し個々の食品の一日摂取量の平均値を求めて、日本人の平均的な食事を再現した試料を作成する。陰膳方式では、一般家庭に依頼して1日分の食事を提供していただき、混合・均質化した試料とする。

当研究所では、MB方式による試料を、以下の手順で作製している。

- ①小売店などで食品を購入する。
- ②食品を分類する。
- ③簡単な調理を行った後に平均摂取量を採取する。
- ④混合・均質化して試料とする。

上記④にある混合は、食品をその性質等によって分類した、米、雑穀・芋、砂糖・菓子、油脂、豆、果実、有色野菜、その他の野菜・海藻、嗜好品、魚

介類、肉・卵、乳・乳製品、調味料、飲料水の14の群ごとに行っている。

MB方式では、平均的な食事を再現した試料中の濃度を摂取量推定に用いる。このため、対象とした有害物質の平均的な摂取量のみが求められ、摂取量の分布は得られない。陰膳方式により、十分に多数の試料から濃度が得られれば、摂取量分布のパラメータとして平均値、標準偏差、パーセンタイル値等が推定できる。マーケットバスケット方式では、食品分類別の濃度・摂取量が得られるので、その有害物質の主要な摂取源を明らかにすることができる。一方、陰膳方式で得られる結果から摂取源を知るには、食事内容の詳細なデータと高度な解析が必要となる。

上記以外の有害物質摂取量推定法として、個々の食品中の有害物質濃度とその個々の食品の摂取量から推定する方法(積み上げ方式)がある。更に発展させ、食品中の有害物質濃度分布データとその食品の摂取量分布データを用い、モンテカルロ法という計算方法により推定する方法もある。モンテカルロ法で用いるいずれのデータも、分布が適切に仮定できるために十分な数があれば、有害物質摂取量の分布が正しく推定可能となる。

4 摂取量推定の実例

1. トータルダイエツト研究による推定

1977年から現在まで継続して行われている、MB方式による有害化学物質摂取量推定研究¹⁻⁷⁾データから幾つかの例を示す。

図1Aは殺虫剤として使用されていた dichloro diphenyl trichloroethane (DDT)類およびポリ塩化ビフェニル (PCBs)の摂取量推移を示す。

DDT類は1971年に農薬登録が失効し、さらに1981年に化審法第1種特定化学物質に指定され、製造・使用・輸入が制限された。これらの施策効果により摂取量は徐々に減少している。主な摂取源は魚介類であり、2011年には85%が魚介類から摂取されている。

PCBsは高い熱安定性、電気絶縁性という性質のため、加熱媒体、コンデンサの絶縁油、溶剤といっ

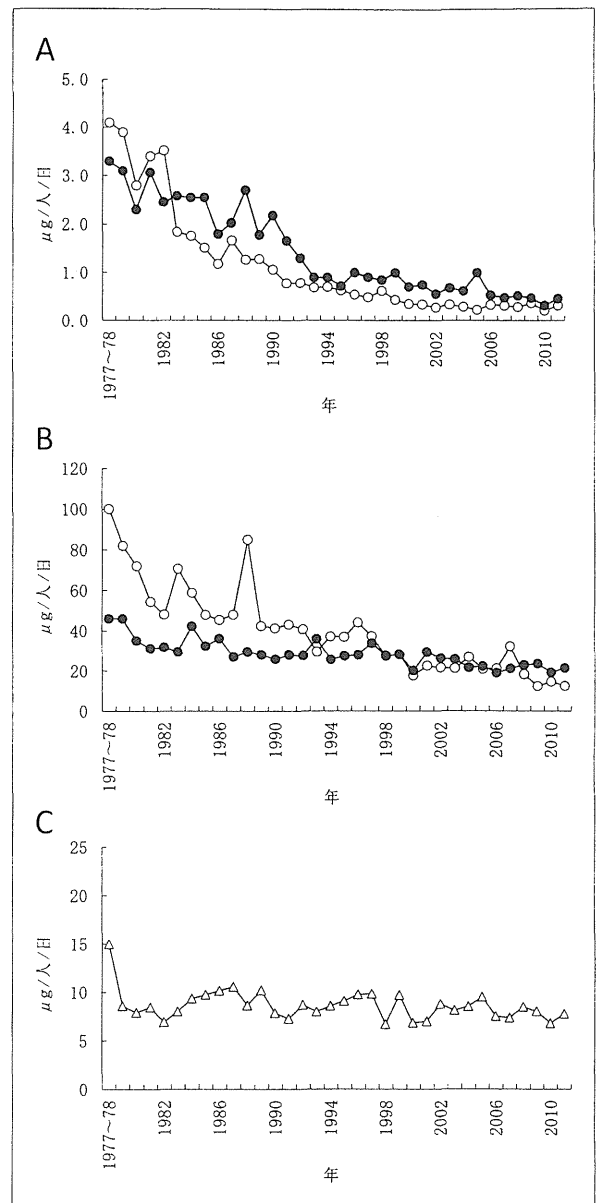


図1 DDT, PCBs, 鉛, カドミウムおよび総水銀摂取量年次推移

A: DDTおよびPCBsの摂取量年次推移。○: DDT, ●: PCBs。
B: 鉛およびカドミウム摂取量年次推移。○: 鉛, ●: カドミウム。
C: 総水銀摂取量年次推移。△: 総水銀。

た用途で、非常に多くの分野で使用されていた。一方、生体への毒性が高くまた蓄積性がある。1968年の「カネミ油症事件」をきっかけに、1972年に生産が中止され、1974年に化審法により第1種特定化学物質に指定された。これらの施策により、PCBs摂取量は徐々に低下して1990年代には調査開始時の1/3の1μg/人/日まで低下したが、その後の減少はDDTと比較しても緩やかとなってい

る。PCBsの主要な摂取源は、DDTと同じく魚介類であり、その割合は年々増加している。

DDTおよびPCBsは環境中で分解されにくく、また低極性で脂質に蓄積しやすい性質を有している。このため、1970年代に生産・使用が中止され、特定化学物質指定措置が取られたことにより環境への放出が抑えられた後も、食品からの摂取量は減少しつつあるものの、長期間継続している。魚介類からの摂取割合が高いのは、水環境に移行後、生物濃縮により蓄積したためと考えられる。

図1Bには鉛、カドミウムの摂取量推移を示す。鉛の摂取量は30年間でやや減少している。ガソリンに添加されていた有機鉛が禁止されたことが、鉛摂取量減少の理由の1つとなっている可能性がある。また、DDTおよびPCBsが主として魚介類を摂取源としていたのに対し、鉛は特定の食品群から多く摂取されているという傾向も見られない。カドミウムの摂取量はほとんど変化が見られない。カドミウムは、米・野菜・魚介類からの摂取割合がやや高いが、やはり多くの食品群から摂取されている。カドミウムの主要摂取源である米には、カドミウムの基準値0.4 ppmが設定されている。図1Cには、総水銀の摂取量推移を示す。カドミウムと同じく、総水銀の摂取量はほとんど変化していない。摂取源の大部分を魚介類が占めており、この点ではPCBs等とよく似ている。

次に、最近行われた放射性物質摂取量の例を示す。表1は、2011年の東京電力福島第一原子力発電所事故後に、食品からの放射性物質摂取量の把握を目的として実施した、MB法による放射性セシウム摂取量の推定結果⁸⁾である。信頼できる推定値を得るために、トータルダイエツト試料各群の試料2 kgをゲルマニウム半導体検出器で22時間測定

し、放射性セシウムの検出下限を0.1 Bq/kgとした。その結果、14のMB試料の半数以上から検出下限以上の分析値が得られた。また、通常の有害化学物質では一日摂取量が推定されるが、放射性物質の場合は内部被ばく線量が年間1 mSvとされていたために、年間の線量として推定した。得られた放射性セシウムによる実効線量は福島で0.019 mSv/年、宮城で0.018 mSv/年、東京で0.002 mSv/年であった。これらの値は1 mSv/年に比べ十分に小さく、原発事故以後に行われた種々の施策が、食品からの内部被ばく防止に一定の効果があったことが示された。

2. モンテカルロ法による推定

次に、ダイオキシン類の摂取量をモンテカルロ法により推定した結果を紹介する。MB方式による2011年のダイオキシン類の摂取量推定値は0.68 pg TEQ/kg bw/日であり⁸⁾、調査開始当初の1998年に推定された2 pg TEQ/kg bw/日の3分の1程度まで減少している。これは1999年に施行されたダイオキシン特別措置法による排出規制の効果と考えられる。

ダイオキシン類は、その90%以上が魚介類から摂取されている。これを根拠として、魚介類中のダイオキシン濃度データと魚介類の摂取量分布データを用いて、モンテカルロ法による摂取量推定を行った。概略を図2に示す。

魚介類摂取量と濃度、それぞれの分布に従う乱数(図2AとB)を発生させ、その積をダイオキシン類摂取量とした。得られたダイオキシン類一日摂取量の平均値は、1.3 pg TEQ/kg bw/日であった。図2Cに示すように、モンテカルロ法による摂取量推定では、平均値だけでなく分布の形、中央値、90%タイル値等が得られる。中央値は0.36 pg TEQ/kg bw/日、90%タイル値は2.9 pg TEQ/kg bw/日、95%タイル値は4.9 pg TEQ/kg bw/日であった。このようなデータにより、摂取量が多くリスクが高い人の比率を推定することが可能となる。これは、モンテカルロ法による摂取量推定の利点である。

表1 放射性セシウム預託実効線量推定結果

	年間預託実効線量(mSv/年)		
	東京	宮城	福島
放射性セシウム	0.002	0.018	0.019
放射性カリウム	0.18	0.20	0.19

ND=LOD/2として計算した。

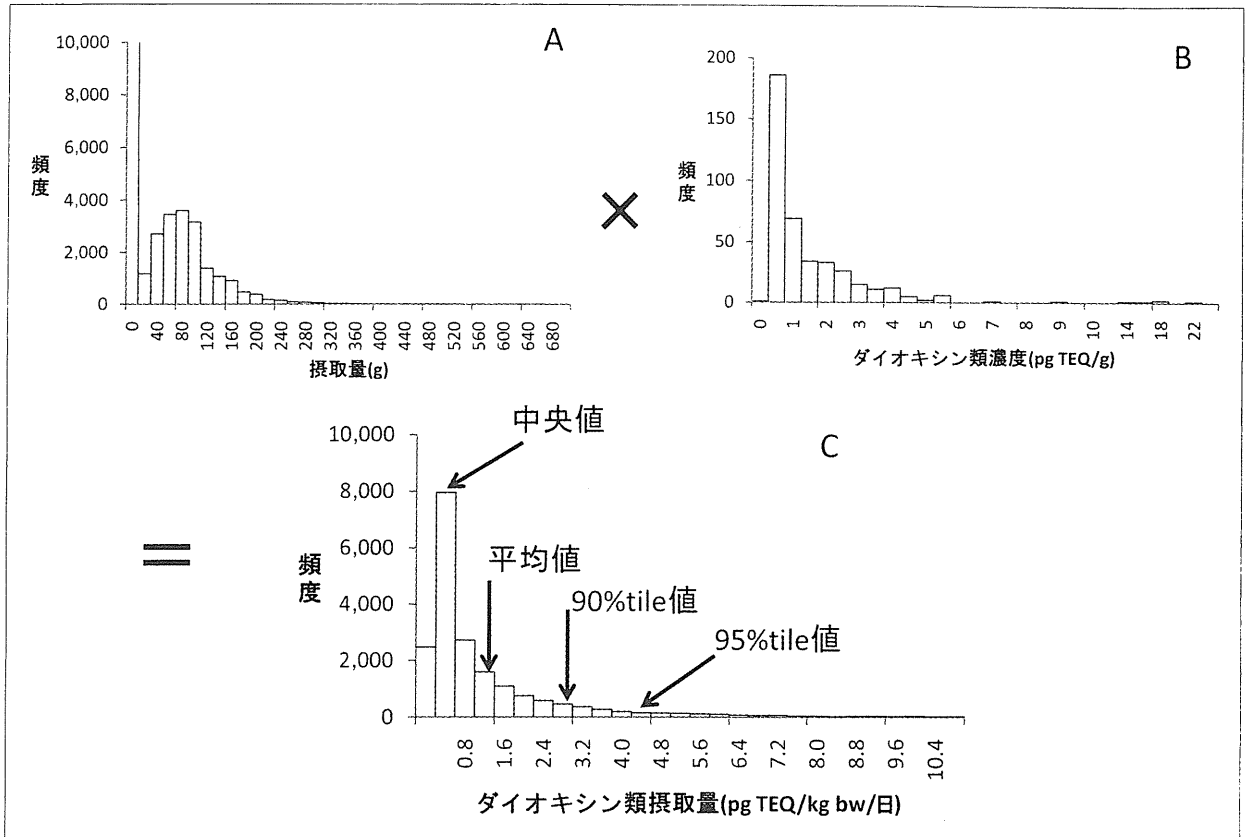


図2 モンテカルロ法によるダイオキシン類摂取量推定

A: 魚類摂取量分布, B: ダイオキシン類濃度分布, C: ダイオキシン類摂取量分布.

5 摂取量推定値の評価

有害物質摂取量推定値を、国際的な枠組みの中で毒性等を考慮して決められた耐容一日摂取量 (tolerable daily intake; TDI) 等の数値と比較して、評価する。TDIは、人が生涯にわたって摂取しても健康に対する有害な影響が現れないと判断される量であり、摂取量推定値がTDIに近ければ健康へのリスクを考慮すべきと評価できる。本稿で示した有害物質の2011年の摂取量推定値とTDIの比は、DDTが0.15%、PCBsが0.19%である。一方、鉛は6.8%、カドミウムは47%となっており、高い比率で推移している。また、ダイオキシン類摂取量推定値のTDI(4.9 pg TEQ/kg bw/日)に対する比率は17%である一方、95% tile 値(4.9 pg TEQ/kg bw/日)はTDIをやや超過していることが分かる。

6 摂取量推定の国際的な取り組み

有害物質摂取量推定の重要性は、国際的にも広く認識されている。欧州食品安全機関(European Food Safety Authority; EFSA)、国際連合食糧農業機関(Food and Agriculture Organization; FAO)、そして世界保健機関(World Health Organization; WHO)は共同で、トータルダイエツト研究の国際的なハーモナイゼーションを目指したガイダンス⁹⁾を作成し、公開している。また2011年には、最近実施された大規模なトータルダイエツト研究の成果を、フランス食品環境労働衛生安全庁が公開している。さらに世界各国で推定された有害物質摂取量は、Global Environment Monitoring System/Food Contamination Monitoring and Assessment Program(GEMS/Food)によりWHO下に設置されたデータベースにも蓄積され、Codex委員会が国際

食品規格を設定する際の科学的エビデンスとして活用されている。

7 摂取量推定の今後の課題

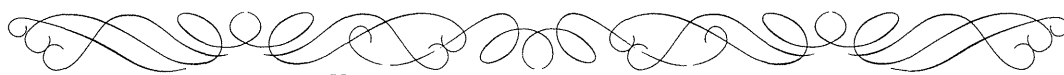
信頼できる有害物質推定摂取量推定値を得るためには、調査対象の実際の食行動を代表する適切な試料を作成することが第一である。それに加え、適切な試料を分析する方法の性能も非常に重要である。摂取量推定のための分析では、特にLOD(検出下限)が重要となる。GEMSでは、分析結果が検出下限以下(ND)となった場合には、濃度を0とする方式と、濃度を検出下限の1/2とする方式の2種類の計算を行うことを指示している。この計算方式を採用するには、NDとなった試料が全体の60%以下であり、全試料の分析を通じて、検出下限が一定と見なせることが前提となっている。したがって、検出下限が高く大部分の試料がNDとなった場合には、信頼できる摂取量は推定できない。検出下限の目標値設定は、対象とする有害物質のTDIも考慮する必要がある。TDIに近い濃度を含む試料からの分析値がNDになるような分析法は、十分な性能といえないのは自明であるが、どの程度の検出限界が適正かの答えはまだない。摂取量推定を目的とした分析法に必要な性能基準の確立は、有害物質の摂取量推定における今後の課題の1つである。

適切な分析値に基づき推定された摂取量がTDI

に比べ極めて小さくなった時には、その後の推定を継続することの意義には疑問がある。規制等の措置がとられた有害物質の摂取量は、施策効果が大きいほど急速に低下する。特に、意図的に使用される化学物質の製造や使用が規制された場合などは、濃度が劇的に減少し検出が難しくなる。一方で、新しく摂取量推定すべき化学物質の選択基準も明確ではない。摂取量推定には時間・労力が必要であり、有限のリソースで最も効率よく目的を達成するためには、どのような化学物質をどのようなタイミングで摂取量推定の対象とするのか、実施のための基準を決めていくことが重要である。

引用文献

- 1) 内山 充. 食品衛生研究. 32, 23-40(1982).
- 2) 斎藤行生. 食品衛生研究. 37, 7-29(1987).
- 3) 五十嵐敦子ほか. 衛生試験所報告. 114, 43-47(1996).
- 4) 国立医薬品食品衛生研究所食品部, 日本におけるトータルダイエット調査(食品汚染物の一日摂取量) 1977~1999年度, 2000年.
- 5) 国立医薬品食品衛生研究所食品部, トータルダイエット試料を用いた食品汚染物の一日摂取量調査 1977~2007年度, 2008年.
- 6) 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, 食品中の有害物質等の摂取量の調査及び評価に関する研究報告書, 2007~2009年.
- 7) 厚生労働科学研究費補助金食品の安全確保推進研究事業, 食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発に関する研究報告書, 2010~2011年.
- 8) 厚生労働科学研究費補助金食品の安全確保推進研究事業, 食品中の放射性物質モニタリング信頼性向上及び放射性物質摂取量評価に関する研究報告書, 2011年.
- 9) GEMS/Food Programme. http://www.who.int/entity/foodsafety/chem/instructions_GEMSFood_january_2012.pdf



食品からの有害物質の摂取量推定

—規制の before & after—

Estimation of Dietary intake of Contaminants

国立医薬品食品衛生研究所
食品部長

松田りえ子

National Institute of Health Sciences
Director of Food Division

Rieko MATSUDA

I 食品からの有害物質摂取量推定の目的

食品中に存在する有害物質の摂取による健康リスクを管理する目的で、種々の施策が実施されている。食品中残留濃度の上限を設定することは、そのようなリスク管理施策の1つである。上限値である基準値は、その物質の毒性を考慮して設定される。基準値を決めることにより、その有害物質を含む食品の流通が禁止され、消費者の健康リスクの低下につながる。また、その物質の使用を禁止する、食品への混入経路や生成経路が明らかな場合は、なんらかの低減措置を講ずるといった施策が実施されることもある。これらの施策の実施の必要性を決定するためには、その有害物質による健康危害の可能性を評価する必要がある。

食品からの有害物質摂取量を推定する大きな目的は、なんらかの施策を採るべきかどうかを決める根拠となるデータの収集である。化学物質の毒性だけではなく、実際に摂取されているかが、施

策を決定する際には重要である。通常の商品中の量が非常に微量であれば、その化学物質の毒性が高いとしても、健康危害リスクは非常に低く、規制等の施策を実施する必要はない。逆に、多くの食品に含まれており、健康危害リスクが高ければ、早急になんらかの施策を講じる必要がある。

摂取量を推定するもう一つの目的は、実施した施策の効果の検証である。施策の実施により、その化学物質の摂取量が減少していれば、その施策が有効であったということになる。減少が見られない、あるいは増加していれば、その施策は無効であり、より効果のある施策を実施しなくてはならない。この観点から、施策実施後の摂取量推定は、ある程度の期間継続して実施していく必要がある。

II 摂取量推定の方法

摂取量推定にはいくつかの方法がある。その1つはトータルダイエット試料を用いる方法で、マーケットバスケット方式と陰膳方式が代表的で

ある。どちらの方法でも、1日分の食事を作り、そのなかの対象とする有害物質濃度を測定し、食事量を掛けて1日の摂取量とする。

国立医薬品食品衛生研究所では、マーケットバスケット方式によるトータルダイエツト試料を用いた、有害化学物質推定を実施しているの、まずこのような試料測定手順を解説する。マーケットバスケット方式では、日本人の平均的な食事を再現したモデル試料を作成する。このためには、まず平均的な食品の摂取量が必要である。厚生労働省は、国民の身体状況、栄養素等摂取量を明らかにし、国民の健康増進を図るために、毎年国民健康・栄養調査を実施している。この調査では、

3,000世帯以上に依頼して、1日に食べた食品すべての重量を調査票に記入していただいている。このデータを集計することにより、個々の食品の1日摂取量の平均値を求めることができる。すべての食品を含めた単一試料は、調製することも分析することも困難であるので、食品を性質によって表1に示す14の群に分類している。1群（米）と14群（飲料水）以外の群は、10以上の食品を含めるので、試料全体としては200種類以上の食品を含むことになる。

群ごとに含める食品とその重量を決定した後に、小売店などで食品を購入し、通常の食事の形態に従った簡単な調理を行う。調理としては、水

表1 マーケットバスケット試料作製における食品分類

群	大分類	中分類
1	米	米, 米加工品
2	雑穀・芋	小麦粉類, パン類, 菓子パン類, うどん, 中華めん類, 即席中華めん, パスタ, その他の小麦加工品, そば・加工品, とうもろこし・加工品, その他の穀類, さつまいも・加工品, ジャガイモ・加工品, その他のいも・加工品, でんぷん・加工品, 種実類
3	砂糖・菓子	砂糖・甘味料類, 和菓子類, ケーキ・パストリー類, ビスケット類, キャンデー類, その他の菓子類
4	油脂	バター, マーガリン, 植物性油脂, 動物性油脂, その他の油脂
5	豆・豆加工品	大豆・加工品, 豆腐, 油揚げ類, 納豆, その他の大豆加工品, その他の豆・加工品
6	果実	いちご, 柑橘類, バナナ, りんご, その他の果実(缶詰含), ジャム, 果汁・果汁飲料
7	有色野菜	トマト, にんじん, ほうれん草, ピーマン, その他の緑黄色野菜, 野菜ジュース
8	野菜・海草	キャベツ, きゅうり, 大根, たまねぎ, はくさい, その他の淡色野菜, 葉類漬物, たくあん・その他の漬物, きのこと類, 海草類
9	嗜好品	日本酒, ビール, 洋酒・その他アルコール飲料, 茶, コーヒー・ココア, その他の嗜好飲料
10	魚介	あじ, いわし類, さけ, ます, たい, かれい類, まぐろ, かじき類, その他の生魚, 貝類, いか, たこ類, えび, かに類, 魚介(塩蔵, 生干し, 乾物), 魚介(缶詰), 魚介(佃煮), 魚介(練り製品), 魚肉ハム, ソーセージ
11	肉・卵	牛肉, 豚肉, ハム, ソーセージ類, その他の畜肉, 鶏肉, その他の鳥肉, 肉類(内臓), 鯨肉, その他の肉・加工品, 卵類
12	乳・乳製品	牛乳, チーズ, 発酵乳・乳酸菌飲料, その他の乳製品, その他の乳類
13	調味料	ソース, しょうゆ, 塩, マヨネーズ, 味噌, その他の調味料, 香辛料・その他
14	飲料水	飲料水

で煮る、フライパンで焼く等が行われるが、4群には油脂、13群に調味料が含まれるので、油で揚げる、調味するといった調理は行わない。調理した食品は、摂取量に従って採取し、混合・均一化する。

もう一つのトータルダイエツト試料作製法である陰膳方式では、一般家庭から1日分の食事を実際に集め、1日分を混合・均一化して試料とする。

マーケットバスケット方式では、平均的な食事試料を作成しているため、化学物質摂取量の平均値のみが求められる。十分に多数の陰膳試料があれば、摂取量の平均値、標準偏差、パーセンタイル値等の統計量も推定できる。一方、マーケットバスケット方式では、食品群別の濃度・摂取量が得られるので、その化学物質の主要な摂取源がわかるが、陰膳試料から摂取源を知るには、食事内容の詳細なデータと高度な解析が必要となる。

トータルダイエツト試料を用いる方式以外に、個々の食品中の化学物質濃度を測定して分布を求め、その食品の生産量・流通量・摂取量のようなデータを用いて、摂取量を推定することができる。これらの方法では、濃度の分布、摂取量等のデータが適切であれば、正しい推定が可能であり、十分な数のデータがあれば、化学物質摂取量の分布とパーセンタイル値のような統計量も推定可能となる。

また、トータルダイエツト方式では多数の食品の混合物を試料とするために、対象化学物質の濃度が低くなるとともに、分析を妨害するマトリックスは複雑になる。個別食品の場合は、マーケットバスケット試料に比較して分析は容易となるが、多数の分析が必要となる。

このように、摂取量推定の方式にはそれぞれ長所・短所がある。目的とする化学物質が、どのような食品に存在しているのか、濃度はどの程度か、使用できる分析法があるか、摂取量推定にか

けられるリソースを勘案して、適切な方式を選択する必要がある。

Ⅲ 摂取量推定の例

本項では、国立医薬品食品衛生研究所食品部で行われた、有害物質摂取量の例を紹介する。

まず、1977年から現在まで継続して行われている、有害化学物質摂取量推定データからいくつかの例を示す。これらはすべて、マーケットバスケット方式により推定されている。

図1は殺虫剤として使用されていた dichloro diphenyl trichloroethane (DDT) 類の摂取量推移と食品群ごとの摂取割合を示している。DDT類は1971年に農薬として失効し、さらに1981年に化審法第1種特定化学物質に指定されたため、摂取量は徐々に減少している。1981年には肉・卵、野菜などからも摂取されているが、徐々に減少し、2011年には85%が魚介類からの摂取となっている。

図2はPCB類の摂取量推移と食品群別摂取割合である。PCBは高い熱安定性、電気絶縁性という性質のため、加熱媒体、コンデンサの絶縁油、溶剤といった用途で、非常に多くの分野で使用されていた。一方、生体への毒性は高くまた蓄積性がある。1968年の「カネミ油症事件」をきっかけに、1972年に生産が中止され、1974年に化審法により第一種特定化学物質に指定され、製造および輸入が原則禁止された。これらの施策により、PCB摂取量は徐々に低下して1990年代には調査開始時の1/3の $1\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ まで低下したが、その後は減少が緩やかとなっている。PCBの主要な摂取源は、DDTと同じく魚介類であり、その割合は年々増加している。

DDTおよびPCBは、環境中で分解されにくく、また低極性で脂肪組織に蓄積しやすい性質を有している。1970年代に生産・使用が中止され、特

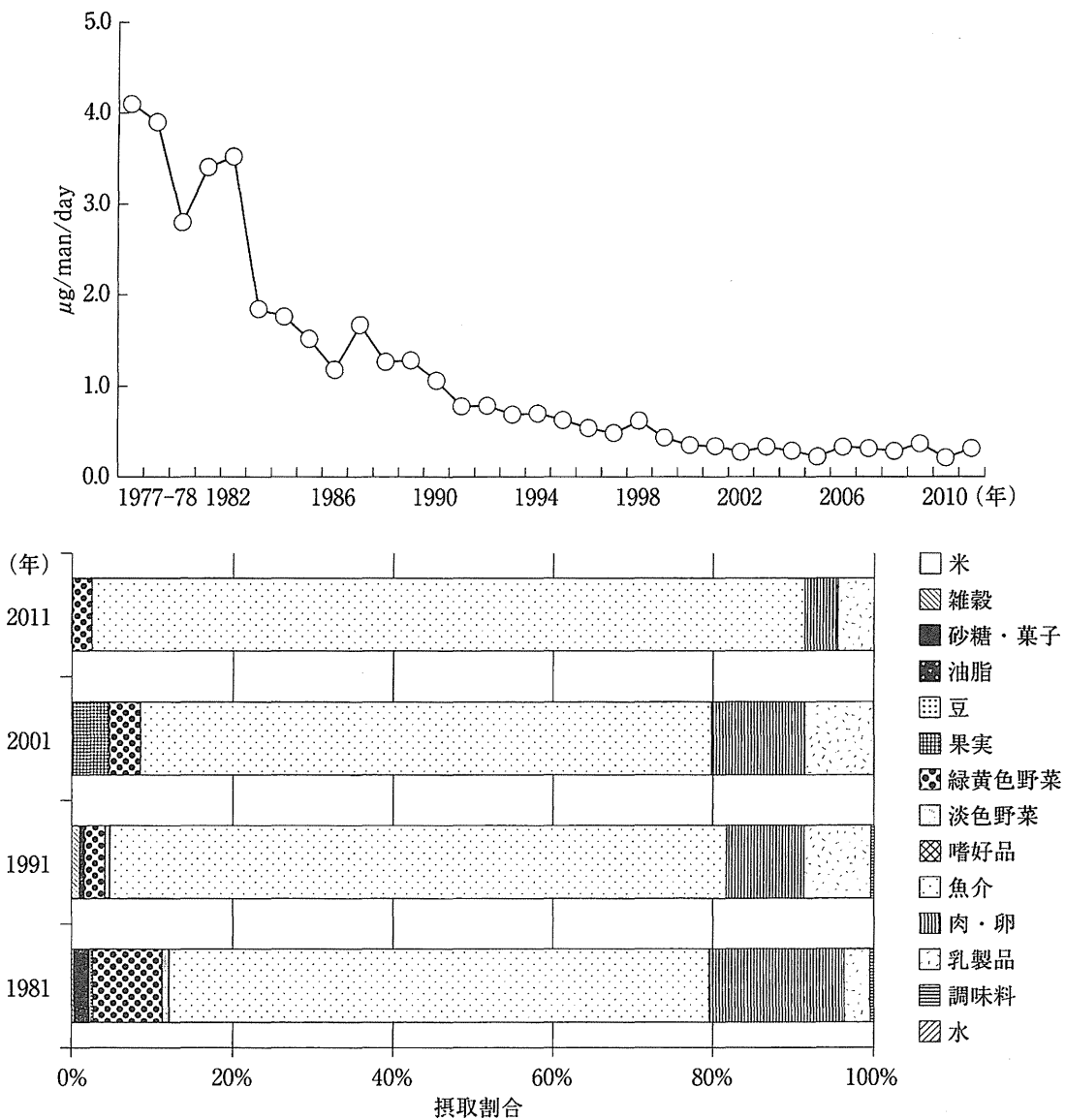


図1 DDT類の摂取量推移と食品群ごとの摂取割合

定化学物質指定措置がとられた後も、食品からの摂取が長期に継続している。魚介類からの摂取量が多いのは、使用された後に水環境に移行し、生物濃縮あるいは食物連鎖により蓄積したためと考えられる。一方、緩やかではあるが摂取量が継続的に減少し、調査開始時の10%程度にまで低下したのは、化審法による規制の効果を示していると考えられる。

図3には鉛、カドミウムの摂取量年次推移と食品群別摂取割合を示す。鉛の摂取量は30年間

でやや減少しているが、カドミウムの摂取量はほとんど変化が見られない。金属はPCBのように人工的に作られ、環境に放出されるものではないために、環境中に常時存在している。また、DDT・PCBが主として魚介類を摂取源としていたのに対し、鉛は特定の食品群から多く摂取されているという傾向も見られない。カドミウムは、米・野菜・魚介類からの摂取がやや多いが、やはり多くの食品群から摂取されている。カドミウムの主要摂取源である米には、カドミウムの基準値

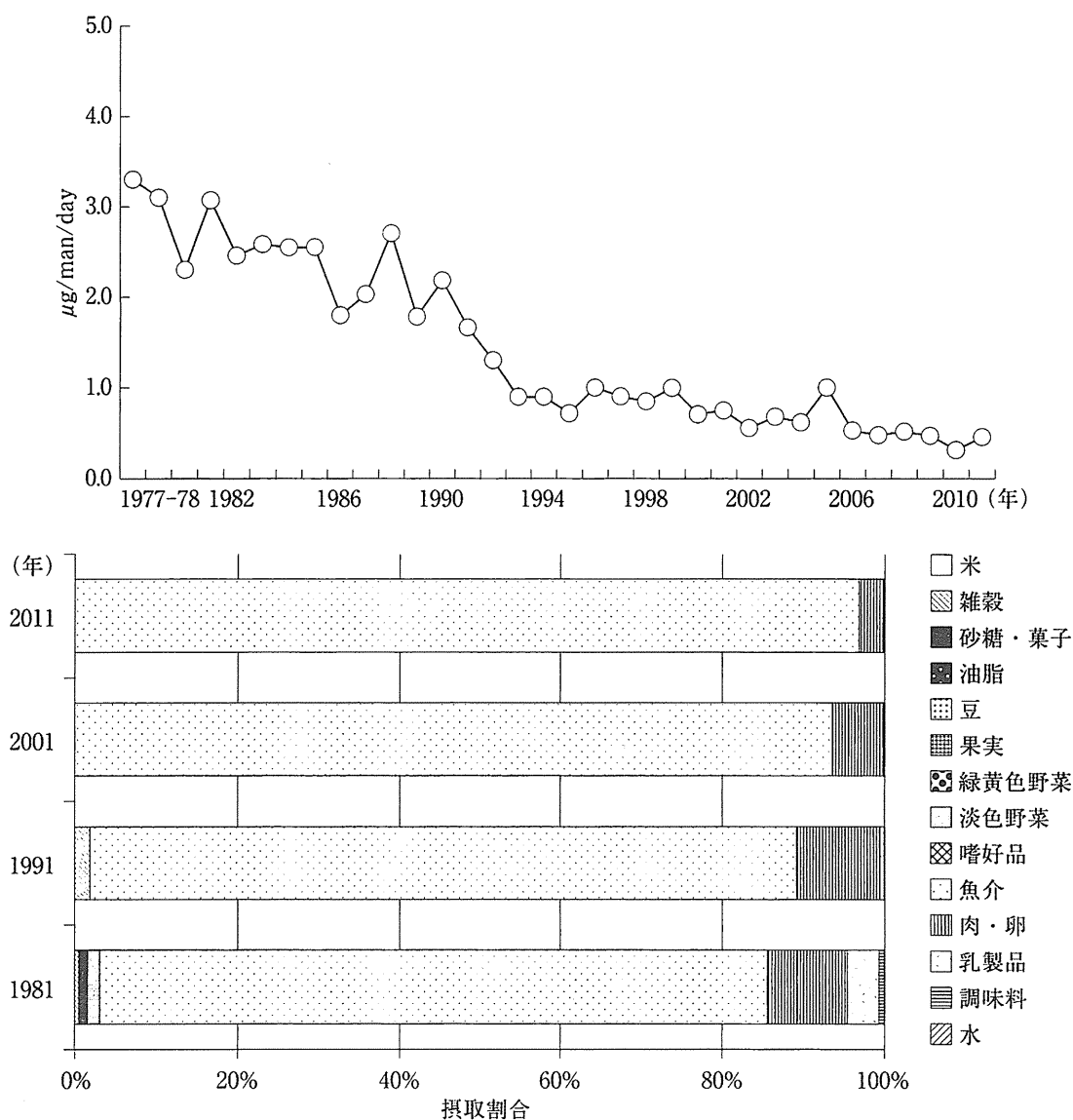


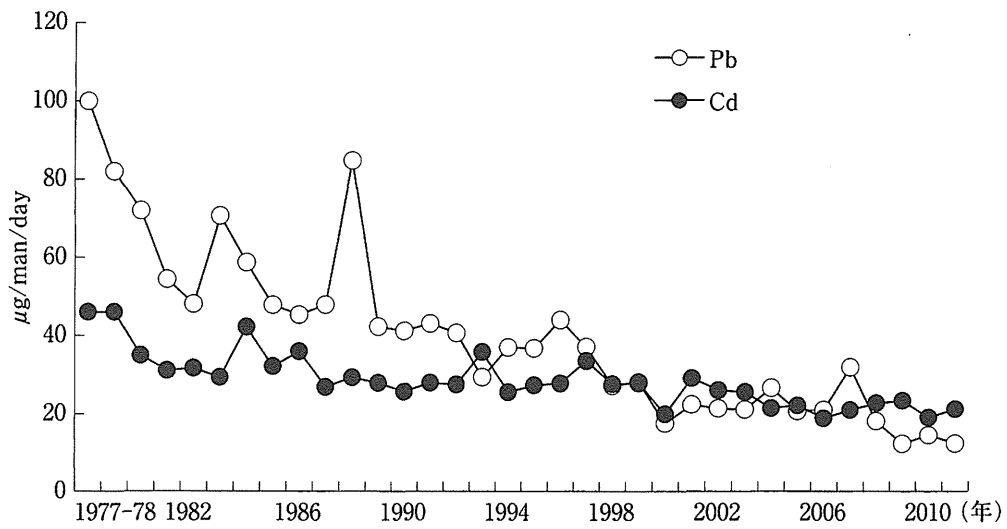
図2 PCB類の摂取量推移と食品群別摂取割合

0.4 ppm が設定されている。

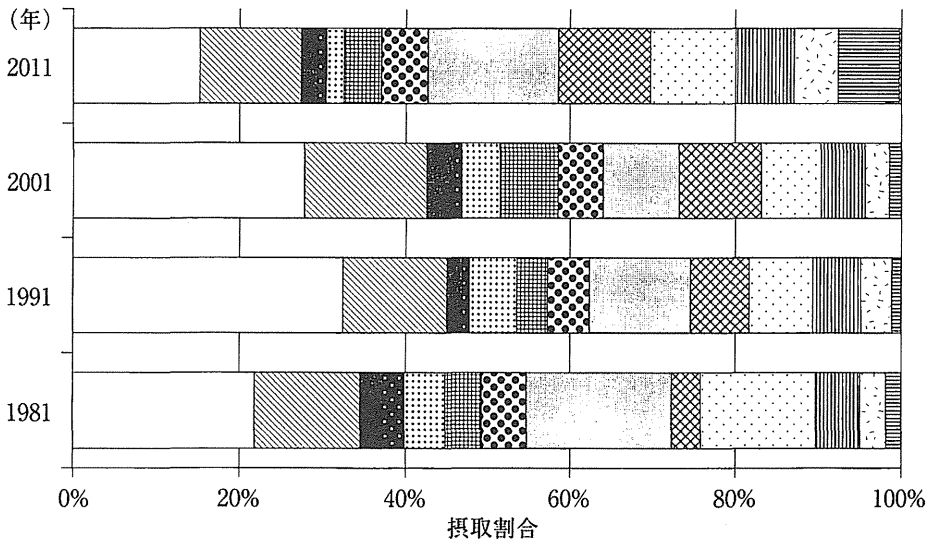
図4は総ヒ素，図5は総水銀の摂取量年次推移と食品群別摂取割合を示す。カドミウムと同じく，摂取量はほとんど変化していない。総ヒ素は魚介類と淡色野菜からの摂取量が多い。淡色野菜の群には海藻も含まれており，海藻にはヒ素を含むものがあることが知られている。総水銀の摂取源の大きな部分を魚介類が占めており，この点ではPCB等とよく似たパターンを示している。ヒ素は有機ヒ素と無機ヒ素があり，無機ヒ素の毒性

は有機ヒ素よりも強い。したがって，健康への影響を評価するためには，総ヒ素だけではなく有機ヒ素と無機ヒ素を区別した摂取量の推定が必要である。同様に水銀では有機水銀の毒性が無機水銀よりも強く，ヒ素と同様に化学形を区別した摂取量の推定が求められている。

鉛，カドミウム，ヒ素，水銀は，先に示したPCBのように人工的に製造された化学物質ではなく，製造・使用の禁止のような施策を採ることができない。米中のカドミウムの低減を目的とし



<鉛>



<カドミウム>

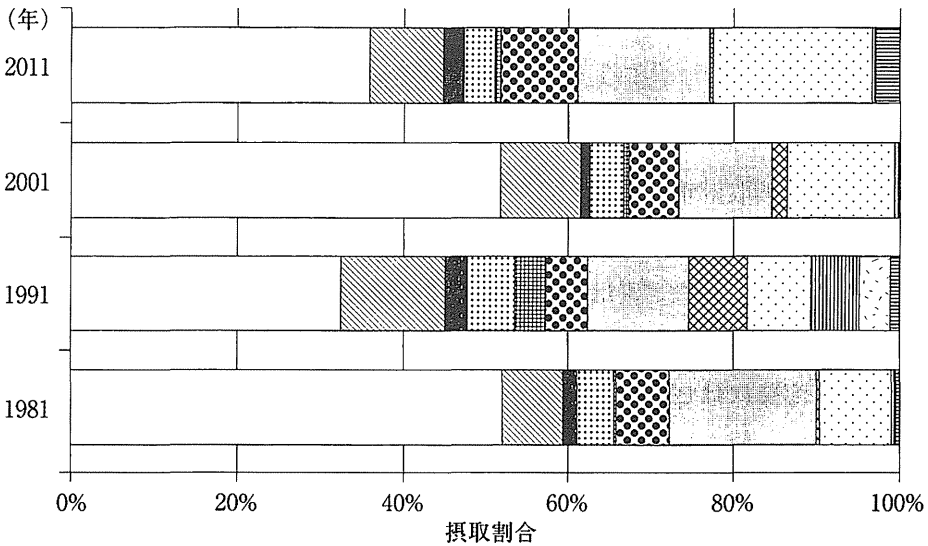


図3 鉛およびカドミウムの摂取量推移と食品群別摂取割合