

201327031A

平成 25 年度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

総括・分担報告書

研究代表者

国立医薬品食品衛生研究所食品部

渡邊敬浩

研究分担者

国立医薬品食品衛生研究所食品部

堤 智昭

国立医薬品食品衛生研究所食品部

片岡洋平

国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

松田りえ子

松山大学薬学部

天倉吉章

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

畷山智香子

平成 26 年(2014 年) 5 月

目 次

I. 総括研究報告

- 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
渡邊敬浩.....1

II. 分担研究報告

1. 各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究
渡邊敬浩
有害物質摂取量推定の部.....61
有害物質濃度実態調査の部.....118
ハロゲン系難燃剤の食品汚染実態調査.....119
食品中に含まれる多環芳香族炭化水素類の実態調査.....139
2. 食品からの塩素化ダイオキシン類の摂取量調査に関する研究
堤 智昭
塩素化ダイオキシン類のトータルダイエツト調査.....159
塩素化ダイオキシン類の個別食品汚染調査.....174
3. 有害化学物質摂取量推定に不可欠な分析法開発に関する研究
片岡洋平.....182
4. リスクを考慮した精密摂取量推定手法開発に関する研究
松田りえ子.....209
5. ダイオキシン様活性を有する新規有害物質に関する研究
天倉吉章.....219
6. 国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害化学物質の探索に関する研究
畝山智香子.....232

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行物

I. 総括研究報告

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

渡邊敬浩

平成 25 年度厚生労働科学研究補助金 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
総括研究報告書

研究代表者	渡邊敬浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部
研究分担者	堤 智昭	国立医薬品食品衛生研究所食品部
研究分担者	片岡洋平	国立医薬品食品衛生研究所食品部
研究分担者	松田りえ子	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究分担者	天倉吉章	松山大学薬学部
研究分担者	畝山智香子	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

研究概要

有害物質の摂取量推定値は、ヒトの健康危害リスク管理のための基礎データであり、高い信頼性と精密さが要求される。リスク管理の施策策定には、懸念される有害物質の摂取量推定値が適時に必要となる。同時に、リスクへの寄与が大きい有害物質の摂取量推定値を継続的に監視し、施策効果を検証する必要がある。本研究では、様々な有害物質の信頼できる摂取量を適時にまた必要に応じて継続的に推定する事を目的に、有害物質の摂取量推定、摂取量の信頼性向上と精密化、摂取量を推定すべき新規有害物質の選定の3つに大別できる研究を実施した。

有害物質の摂取量推定研究では、マーケットバスケット方式により全国10地域においてトータルダイエット試料を調製し、その分析を通じて各種有害物質の摂取量を推定した。摂取量を推定した有害物質は、耐用摂取量(TDI)が設定されているホウ素、アルミニウム、ニッケル、セレン、カドミウム、アンチモン、バリウム、鉛、ウランに加え、一斉に分析可能としたヒ素、総水銀、スズ、クロム、コバルト、モリブデンの元素類、メチル水銀、PCBs、ダイオキシン類(PCDD/PCDFs及びCo-PCBs)である。研究の成果として、元素類の全国平均摂取量はB:1523.8 µg/man/day、Al:4687 µg/man/day、Ni:156.8 µg/man/day、Se:90.2 µg/man/day、Cd:17.6 µg/man/day、Sb: 2.2 µg/man/day、Ba:468.4 µg/man/day、Pb:10.4 µg/man/day、U: 1.0 µg/man/day、As:213.9 µg/man/day、Sn:228.9 µg/man/day、Cr:30.2 µg/man/day、Co:9.0 µg/man/day、Mo:225.3 µg/man/dayと推定された。またメチル水銀とPCBsの全国平均摂取量は、それぞれ6.7µg/man/day、436 ng/man/dayと推定された。ダイオキシン類の全国平均摂取量は0.58(範囲：0.18~0.97)pg TEQ/kg bw/dayと推定された。

さらにダイオキシン類の摂取量については、精密化の一環として、ハイリスク集団と考えられる幼児におけるダイオキシン類の1日摂取量を推定するため、幼児用のTD試料を調製しダイオキシン類を分析した。その結果、幼児によるダイオキシンの摂取量は、0.46 pg TEQ/kg bw/dayと推定された。

TDIが設定されている元素類のうち、ニッケル、メチル水銀、ホウ素、アルミニウム、セレン、カドミウム、バリウム、ウランのそれぞれの摂取量が耐用摂取量に占める割合(対TDI比)は、ニッケルの78.4%を筆頭に、メチル水銀が50%以上、ホウ素、アルミニウム、セレン、カドミウム、バリウムが30%以上、ウランが10%以上となった。ダイオキシン類の全国平均摂取量は、平成24年度の調査結果よりやや低い値で推定された。摂取量の推定値の最大は0.97 pg TEQ/kg bw/dayであり平均値の約1.7倍であったが、日本におけるTDI(4 pg TEQ/kg bw/day)の24%程度であった。

その他、摂取量推定が必要かを判断するため、毒性や国際的な規制等の動向から優先度が高いと判断した多環芳香族炭化水素類(PAHs)、臭素系難燃剤(ヘキサブROMOCクロドデカン:HBCD)、塩素系難燃剤(デクロランプラス:DP)を対象に食品濃度の実態等を調査した。PAHsの含有実態調査では、燻製魚、なまり節、焼き魚、燻製肉、燻製卵、鰹削り節、及び鰹節等を風味原料に使用したダシパック及びつゆの計43試料を分析した。その結果、鰹削り節やダシパックのPAHs濃度が高い傾向が認められた。PAHs16種の中でも分子量の小さいBenzo[a]anthracene、Cyclopenta[c,d]pyrene等はほぼ100%の割合で検出され、濃度も高かった。燻製魚介類の調査結果を用いてBAP摂取量を試算した結果、多めに見積もっても11.3 ng/kg体重/日程度と推定された。暴露マージンを計算すると約8,800であったことから、人の健康への懸念は大きいとは言えなかった。HBCDの含有実態調査では、魚介類20試料すべてから検出され、その湿重量当たりの濃度範囲は0.12 ng/g~22 ng/g(平均3.1 ng/g)であった。異性体別の濃度は α 体が0.12~16 ng/g、 β 体がND~0.11 ng/g、 γ 体がND~6.2 ng/gであった。濃度が高い試料について光学異性体分析を行った結果、光学異性体構成比は α 体で0.49~0.56、 γ 体で0.50~0.55であり、光学異性体による明確な差異は見られなかった。DPの含有実態調査では、魚介類20試料中17試料からDPが検出された。得られた濃度値(湿重量あたり)は*syn*体がND~7.0 pg/g(平均2.2 pg/g)、*anti*体はND~13 pg/g(平均3.7 pg/g)であり、DPの*syn*体と*anti*体の濃度合計値(Total DP)の範囲はND~20 pg/g(平均5.9 pg/g)であった。

摂取量の信頼性向上と精密化研究では、1)摂取量推定を目的とした分析法の性能評価手法の開発、2)リスクを考慮した精密摂取量推定手法開発、3)メチル水銀分析法及びヒ素形態別分析法の開発について検討した。摂取量推定を目的とした分析法の性能評価手

法の開発の成果として、マーケットバスケット方式によるTD試料を模した性能評価用試料(SEMP)が開発された。摂取量推定を目的とする分析法の一例として多元素一斉分析法を取りあげ、本法を用いてSEMPを分析した結果から、食品に本来含まれている元素が元素ごとに異なる濃度で含まれていたものの、その均質性は非常に高いことが示された。さらに、SEMPの分析結果及び、推定すべき摂取量の大きさを踏まえ濃度を決め、調製した添加試料の計画的な分析の結果から、多元素一斉分析法の真度と精度を推定した。その結果、一部の元素と試料の組合せを除き、真度は90～110%、併行精度は15%未満と推定された。

年代別の食品摂取量パターンの比較のため、国民健康・栄養調査結果の、食品小分類ごとの1日の摂取量の平均値を1-3歳(幼児1)、4-6歳(幼児2)、7-12歳(学童)、13-18歳(中学・高校生)、19-64歳(成人)、65歳以上(高齢者)の年齢区分ごとに求めた。その結果、年齢区分に応じた食品摂取重量のパターン等、有害物質の摂取量を推定する上で不可欠な情報が得られた。得られた情報を踏まえ、1-3歳の幼児の平均的食事を模したTD試料が作製された。

暫定的規制値への適合判定を目的としたメチル水銀分析法を基礎とし、主にGC-MS/MSを測定機器に採用することにより、摂取量推定を目的とした分析に使用可能な方法を開発した。本分析法の妥当性は、メチル水銀の主たる摂取源と考えられる10群(魚介)及び11群(肉・卵)を模したSEMP試料に、それぞれ0.05 mg/kg、0.005 mg/kgになるよう標準品を添加した試料を5併行分析した結果から推定された真度と併行精度によって確認した。本法により10群試料を分析した結果から推定された真度及び精度(RSD%)はそれぞれ84%と4.9%、11群試料を試料を分析した結果から推定された真度及び精度はそれぞれ97%と3.3%であった。ヒ素の形態別分析法として、2種の無機ヒ素(亜ヒ酸、ヒ酸)と6種の有機ヒ素(モノメチルアルソン酸、ジメチルアルシン酸、トリメチルアルシノキサイド、アルセノベタイン、アルセノコリン、テトラメチルアルソニウム)の選択的な定量分析法の開発を検討した。高速液体クロマトグラフィー-誘導結合プラズマ質量分析計(HPLC-ICP-MS)による形態別分析法に着目し、無機ヒ素と有機ヒ素を合わせた計8つのヒ素化合物を分離し測定するための測定法を検討した。特に毒性が高いとされる無機ヒ素を高分解能で分析可能なODSカラムの選定、及び逆相イオンペアクロマトグラフィーによる分離のための移動相条件の最適化を行った。

摂取量を推定すべき新規有害物質の選定研究では、ダイオキシン類バイオアッセイの鍵となるアリル炭化水素レセプター(AhR)と76種の有害物質の相互作用を評価した他、暴露マージン(MOE)の大きさと分類した化合物のリストを作成した。AhRとの相互作用

を評価したPAHs及びその誘導体、残留農薬、アミノ酸及びその代謝物のうち、PAHsの多くは、顕著なAhR活性を濃度依存的に示した。PAHsの誘導体については、環の数が多くなれば活性が強くなる傾向が認められた。ハロゲン化体は、塩素の数が多くなるほど活性が弱まった。ニトロ化及びアミノ化体では、本検討だけでは置換基の数や位置で活性の強弱は考察できなかつた。一方、農薬では、インドール骨格を有するcarbendazim、thiabendazoleの2種の化合物に強い活性が認められた。アミノ酸及びその代謝物についても同様、インドール化合物tryptamineに活性が認められた。MOEを指標作成した化合物リストからは、MOEが一桁と評価されている化合物、すなわち、アクリルアミド、テトラクロロエタン、アフラトキシンB1、鉛、エタノール、ダイオキシン、フラン、無機ヒ素、アクロレイン、テトラクロロエタン、テトラブロモビスフェノールA、カルバミン酸エチル、Sudan I、酸化カドミウム、ホルムアルデヒド、メチルオイゲノール、ゲニステインが比較的摂取量推定の優先順位の高い化合物である可能性が示された。

1. 有害物質の摂取量推定研究

1-1. 各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定

A. 研究目的

本研究では、有害物質の適時及び継続的な摂取量推定を目的に、過去の研究成果や耐用摂取量が設定されていることを基準に、各種有害元素、メチル水銀及び PCBs を対象とした。各種有害元素、メチル水銀及び PCBs の摂取量は、マーケットバスケット (MB)方式によるトータルダイエツト (TD)研究の一環として推定した。なお、これら摂取量推定のための分析は、新たに開発した元素一斉分析法、メチル水銀分析法及び異性体別 PCBs 分析法の性能を確認した後、国立医薬品食品衛生研究所で実施した。

B. 研究方法

1)-1. TD 試料の調製

日本人が日常的に飲食する食事 (日常食)からの有害物質摂取量を推定するため、日常食のモデルとなる TD 試料を MB 方式により調製した。TD 試料の調製は、試料に含める食品数を多くすることと、地域による食品摂取パターンの違いを考慮し、全国 10 カ所の衛生研究所等で行った。該当する各地域における個々の食品の摂取量には、平成 20 年度～22 年度

の 3 カ年に行われた国民健康・栄養調査の結果を入手し、地域別に集計した結果(3 年間の平均値)を用いた。

TD 試料は、下記 14 群に分割して調製した。1 群:米及びその加工品、2 群:雑穀・芋、3 群:砂糖・菓子類、4 群:油脂類、5 群:豆・豆加工品、6:果実類、7 群:有色野菜、8 群:その他の野菜・海草類、9 群:嗜好飲料、10 群:魚介類、11 群:肉・卵、12 群:乳・乳製品、13 群:調味料、14 群:飲料水。

調製された TD 試料は変質等による分析結果への影響に配慮し、不活性容器に入れ冷凍状態を保ちつつ、国立医薬品食品衛生研究所に収集した。全ての分析は、国立医薬品食品衛生研究所で実施した。

1)-2. 元素の一斉分析

1)-2-1. 試薬・試液

分析に使用した主たる試薬を以下に示す。

・水:メルク社製装置(Milli Q Element A10)により製造した超純水。(比抵抗 > 18.2MΩ・cm、TOC < 3 ppb)

・硝酸:硝酸 1.42 Ultrapur-100 (関東化学株式会社)

・過酸化水素水:Ultrapure (関東化学

株式会社)

- ・各種元素標準原液 (ウランを除く): Trace CERT ICP用 (シグマアルドリッチ社製)
- ・ウラン標準原液: XSTC-289 (西進商事)
- ・混合内部標準溶液: ベリリウム(Be)、ガリウム(Ga)、イットリウム(Y)、インジウム(In)、タリウム(Tl)の濃度がそれぞれ 50 mg/L、20 mg/L、2 mg/L、10 mg/L、0.5 mg/L になるように各元素の標準原液から適量を分取し、硝酸 14 mL を加えた後、水で 100 mL に定容した。

1)-2-2. 機器

- ・マイクロ波分解装置: ETHOS-One 及び ETHOS-TC (マイルストーンゼネラル社製)
- ・ICP-MS: ICP-MS iCAP Q (サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)

1)-2-3. 分析法

測定溶液の調製

各分析用試料から 0.5 g をマイクロ波分解装置用容器に量りとった。硝酸 7 mL 及び過酸化水素水 1 mL を加え、分解した。分解後の溶液に、混合内部標準溶液 0.5 mL を添加後、水で 50 mL に定容した。定容後の溶液を測定溶液として

ICP-MS により測定した。

試料の分解条件

マイクロ波分解装置による分解は、以下の条件で行った。

70 °C ;2 分間 →50 °C ;3 分間 →200 °C ;18 分間 (50 °C から 200 °C までの温度変化に要する時間)。200 °C に到達した後、同温度でさらに 10 分間分解させた。

測定条件

ICP-MS による測定は、以下の条件で行った。なお、各測定パラメーターは、標準試薬を用いた機器のキャリブレーション結果に基づき設定した。

- ・スプレーチャンバー: (ペルチェ冷却ジャケット付)サイクロン型
- ・コリジョンガス: ヘリウム(99.9999%)
- ・測定モード: KED(Kinetic Energy Discrimination:運動エネルギー弁別)モード
- ・元素あたりの測定時間: 1 秒
(積分時間(s): 0.1、チャンネル数: 1、スペース(u): 0.1、掃引数(回): 10)
- ・繰り返し測定回数: 3

分析対象元素の測定質量数

分析対象とした 14 種の元素と測定質量数は以下の通りである。(括弧内の数字が測定質量数)

ホウ素 :B(11)、アルミニウム :Al(27)、クロム :Cr(52)、コバル

ト:Co(59)、ニッケル:Ni(60)、ヒ素:As(75)、セレン:Se(78)、モリブデン:Mo(95)、カドミウム:Cd(111)、スズ:Sn(118)、アンチモン:Sb(121)、バリウム:Ba(137)、鉛:Pb(208)、ウラン:U(238)。

内部標準元素の測定質量数

内部標準とした元素と測定質量数は以下の通りである。(括弧内の数字が測定質量数)

Be(9)、Ga(71)、Y(89)、In(115)、Tl(205)。

1)-2-4. 検出下限及び定量下限

試料を含めず全分析操作を実施する操作ブランク実験を、試料の分解に使用するすべての容器(計 54)を用いて行い、得られた定量値から標準偏差(σ)を推定し、その3倍の値(3σ)を検出下限(LOD)、10倍の値(10σ)を定量下限(LOQ)として推定した(表 3)。LODを下回った値はNDとした。

1)-3. メチル水銀分析

1)-3-1. 試薬・試液

メチル水銀の分析に使用した主たる試薬を以下に示す。

- ・塩化メチル水銀：ジーエルサイエンス
- ・アセトン及びトルエン：残留農薬・PCB分析用(関東化学株式会社製)

・臭化カリウム：特級(和光純薬工業株式会社)

・硫酸銅(II)：鹿特級(関東化学株式会社)

・L-システイン塩酸塩一水和物：特級(和光純薬工業株式会社)

・テトラフェニルホウ酸ナトリウム：和光純薬工業株式会社

・ポリエチレングリコール 200：一級(和光純薬工業株式会社)

・1 mol/L 臭化カリウム溶液：臭化カリウム 119.0 g を水に溶解し、1 L とした。

・硫酸銅(II)飽和 4 mol/L 硫酸：水 600 mL に硫酸 200 mL を加え、放冷後、水を加えて 900 mL にした後、無水硫酸銅(II)を飽和するまで溶解させた。

・1% L-システイン溶液：L-システイン塩酸塩一水和物 10.0 g、酢酸ナトリウム三水和物 8.0 g、無水硫酸ナトリウム 125.0 g を水に溶解し、1 L とした。

・0.2 mol/L りん酸緩衝液(pH 7.0)：りん酸二水素ナトリウム二水和物 31.2 g を水に溶解して 1 L とし、これを第一液とした。りん酸水素二ナトリウム十二水和物 71.6 g を水に溶解して 1 L とし、これを第二液とした。第一液 380mL と第二液 610mL を混合し、必要に応じて、第一液を用いて pH を 7.0 に調整した。

1)-3-2. 機器

・GC-MS/MS : TSQ Quantum XLS (サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)

1)-3-3. 分析法

測定溶液の調製

各分析用試料から 10.0 g を量りとり、アセトン 100 mL を加え 30 秒間振とうした。アセトンを除去後、トルエン 100 mL を加え 30 秒間振とうした。遠心後、トルエンを除去し、1 mol/L 臭化カリウム溶液 40 mL、硫酸銅(II)飽和 4 mol/L 硫酸 40 mL 及びトルエン 80 mL を加え、30 分間激しく振とうした。遠心後、トルエン層を採取した。水層にトルエン 50 mL を加え 10 分間振とう後、同様に操作して得られたトルエン層を合わせた。1% L-システイン溶液 50 mL を加え 5 分間振とうし、静置後、水層を採取した。6 mol/L 塩酸 30 mL、トルエン 30 mL を加え 5 分間振とう後、トルエン層を採取した。水層にトルエン 30 mL を加え 5 分間振とうし、トルエン層を合わせ、正確に 100 mL とした。トルエン溶液 4mL に 0.2 mol/L リン酸緩衝液(pH 7.0) 5 mL、1% テトラフェニルホウ酸ナトリウム溶液 1 mL を加え、室温に 10 分間静置後、遠心した。トルエン層を脱水後、1 mL を採取し、1.5 mg/mL PEG200 0.5 mL を正確に加え混合したものを測定溶液と

した。

測定条件

GC-MS/MS による測定は、以下の条件で行った。

- ・カラム: InertCap 5MS/NP (内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μ m)
- ・オープン温度: 70°C(1 min) \rightarrow 10°C/min \rightarrow 160°C(0 min) \rightarrow 20°C/min \rightarrow 280°C (5 min)
- ・注入口温度: 250°C
- ・トランスファライン温度: 280°C
- ・イオン源温度: 280°C
- ・溶媒待ち時間: 6 分
- ・注入量: 1 μ L
- ・キャリアガス(He)流量: 1.0 mL/min
- ・イオン化法: EI
- ・分析モード: SRM
- ・モニターイオン: m/z 294 \rightarrow m/z 279(コリジョンエネルギー: 5 V)

1)-4. 異性体別 PCBs 分析

1)-4-1. 試薬・試液

異性体別 PCBs の分析に使用した主たる試薬を以下に示す。

- ・検量線用 PCB 標準液: TPCB-CSL-A、CS1-A、CS2-A、CS3-A、CS4-A、CS5-A (関東化学株式会社)
- ・クリーンアップスパイク標準液: TPCB-CL-A100 (関東化学株式会社)
- ・シリジンスパイク標準液: TPCB-SY-A100 (関東化学株式会社)
- ・209 異性体確認用標準液:

M-1668A-1-0.01X、2-0.01X、3-0.01X、
4-0.01X、5-0.01X (和光純薬工業株式
会社)等容量混合したもの

・高分解能質量数補正用試薬：パー
フルオロケロセン(PFK：L16596)(日
本電子株式会社)

・アセトン、エタノール、ジクロロ
メタン、ヘキサン、ノナン：ダイオ
キシン類分析用(関東化学株式会社
製)

・ヘキサン洗浄水：残留農薬試験用
(関東化学株式会社製)

・塩化ナトリウム：残留農薬試験・
PCB 試験用(関東化学株式会社製)

・無水硫酸ナトリウム：PCB 試験用
(関東化学株式会社製)

・水酸化カリウム：特級(関東化学株
式会社製)

・アルミナ(関東化学株式会社製)：
ダイオキシン類分析用(関東化学株
式会社製)

・多層シリカゲルカラム：内径 15 mm、
長さ 30 cm のカラムに無水硫酸ナト
リウム 2 g、シリカゲル 0.9 g、44%硫
酸シリカゲル 3 g、シリカゲル 0.9 g、
及び無水硫酸ナトリウム 2 g が順次
充填されたもの(ジーエルサイエン
ス株式会社製)

・アルミナカラム：内径 15 mm、長
さ 30 mm のカラムに無水硫酸ナト
リウム 2 g、アルミナ 15 g、無水硫酸ナ
トリウム 2 g を順次充填し作製した。

・GC キャピラリーカラム：
HT8-PCB(内径 0.25 mm x 60 m)(関東
化学株式会社製)

1)-4-2. 機器

・GC：HP 6890 Series GC System Plus
(Hewlett Packard 社製)

・MS：JMS-700 (日本電子株式会社
製)

1)-4-3. 分析法

測定溶液の調製

均一化した試料 20.0 g をビーカー
に量りとり、クリーンアップスパイク
100 μ L を加えた後、1 mol/L 水酸
化カリウム・エタノール溶液を 100
mL 加え室温で 16 時間、スターラー
で攪拌した。このアルカリ分解液を
分液ロートに移した後、水 100 mL、
ヘキサン 100 mL を加え 10 分間振
とう抽出した。静置後、ヘキサン層
を分取し、水層にヘキサン 70 mL を
加え同様の操作を 2 回行った。ヘ
キサン抽出液を合わせ、2%塩化ナ
トリウム溶液 100 mL を加えて緩や
かに揺り動かし、静置後、水層を除
き同様の操作を繰り返した。ヘキサ
ン層の入った分液ロートに濃硫酸
を適量加え、緩やかに振とうし、静
置後、硫酸層を除去した。この操
作を硫酸層の着色が薄くなるまで
繰り返した。ヘキサン層をヘキサン

洗浄水 10 mL で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、溶媒を減圧留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。この溶液を、ヘキサン 120 mL で洗浄した後の多層シリカゲルカラムに負荷し、ヘキサン 50 mL で溶出した。溶出液は溶媒を減圧留去し、約 2 mL のヘキサンに溶解した。この溶液を、ヘキサンで湿式充填したアルミナカラム負荷し、ヘキサン 100 mL で洗浄後、20%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 100 mL で溶出した。溶媒を窒素気流下ではほぼ完全に留去後、シリンジスパイク 100 μ L を加え、GC-MS 測定溶液とした。

測定条件

GC-MS による測定は、以下の条件で行った。

- ・注入方式：スプリットレス
- ・注入口温度：280 $^{\circ}$ C
- ・注入量：2.0 μ L
- ・昇温条件：100 $^{\circ}$ C(1 分保持)-20 $^{\circ}$ C/分-180 $^{\circ}$ C-2 $^{\circ}$ C/分-260 $^{\circ}$ C-5 $^{\circ}$ C/分- 300 $^{\circ}$ C(4 分保持)
- ・MS 導入部温度：280 $^{\circ}$ C
- ・イオン源温度：280 $^{\circ}$ C
- ・イオン化法：EI ポジティブ
- ・イオン化電圧：38 eV
- ・イオン化電流：600 μ A
- ・加速電圧： \sim 10.0 kV
- ・分解能：10,000 以上

分析対象

PCBs 全 209 異性体を分析対象とした。

1)-4-4. 検出下限及び定量下限

最低濃度の検量線作成用標準液 (TPCB-CSL-A) をノナンで 5 倍に希釈した溶液を GC-MS により測定し、その結果から、S/N=3 に相当する濃度を LOD、S/N=10 に相当する濃度を LOQ とした。

C.D. 結果及び考察

MB方式により全国10地域でTD試料を調製し、その分析により得られた値、すなわち各種(有害)物質のTD試料濃度と、各地域の食品摂取重量に基づき、各種(有害)物質の摂取量を推定した。

1. 各種元素の摂取量推定

TD試料の分析を通じ、各種元素の摂取量を推定した。一斉分析法の対象となる14元素(B、Al、Ni、Se、Cd、Sb、Ba、Pb、U、AS、Sn、Cr、Co、Mo)の摂取量は、試料濃度を0あるいはLOD/2 (ND=0あるいはND=LOD/2)とする2つの方式で推定したが、2つの方式で推定した摂取量はほぼ一致した。この結果は、十分に感度の高い分析法を採用することで、分析結果がNDとなる機会を極力減らし、LODがより低濃度に設

定された効果といえる。ほぼ一致する推定値ではあるが、より安全側に立脚した推定に配慮し、2方式により摂取量を推定した場合には、2/LODの値を以後の集計と考察に用いた。

今回推定した総摂取量の値(食品群別摂取量推定値の総和)は全10地域を通じ、元素ごとに以下の範囲にあった。B:1294～1854 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Al:1632～23160 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Ni:103～214 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Se:78.2～98.8 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Cd:11.9～32.4 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Sb: 0.9～8.8 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Ba:270～754 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Pb:3.8～30.9 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、U: 0.5～1.9 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、As:159.3～285.7 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Sn:2.4～1127.8 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Cr:18.3～46.6 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Co:5.3～16.3 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Mo:158.5～314.6 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 。

地域・食品群別摂取量推定値を集計し、食品群別摂取量と総摂取量の全国平均を推定した。全国平均は以下の通り推定された。B:1523.8 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Al:4687 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Ni:156.8 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Se:90.2 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Cd:17.6 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Sb: 2.2 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Ba:468.4 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Pb:10.4 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、U: 1.0 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、As:213.9 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Sn:228.9 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Cr:30.2 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Co:9.0 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Mo:225.3 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 。

総摂取量推定値に対する各群摂取

量推定値の寄与率算出した結果、食品群別摂取量の総摂取量への寄与率のパターンは元素によって大きく異なることがわかった。しかし、本年度の研究によってはじめて摂取量を推定した元素については、寄与率が一般的といえるか判断できない。つまり、ある特定の元素の摂取量を考察するうえで、総摂取量に対する寄与率が特定の食品群において高くあるいは低くなることは、現時点では判断できない。今後の継続研究の結果を待たなければならぬ。しかし、過去の研究の結果とも一致することから、1)Pbは特定の食品によらず様々な食品から摂取される、2)Asは主に魚介類から摂取され、それに準じてその他野菜・海藻類からの摂取量が多い、3)Cdは米から最も多く摂取されるといえる。

元素としての特徴から一斉分析には向かない総水銀(Hg)は、別途ICP-MS法により分析した。また、これまでの研究の成果として、Hgはほぼ魚介類(10群)と肉類(11群)からしか検出されず、かつ10群摂取量が支配的であることが明らかとなっていた。このことを踏まえ、効率的に摂取量を推定するために、10群と11群のTD試料のみを分析した。Hg摂取量はND=0とND=LOD/2の2つの方式で推定したが、結果はほぼ一致した。また、10群と11群それぞれの摂取量の和をHg摂取量とし

各群の寄与率を計算すると、10群の寄与率が最も低い地域であっても95.9%となり、支配的であることが確認された。このHg摂取量の推定結果を踏まえ、メチル水銀の分析は10群のみを対象とし実施した。10群のTD試料の分析を通じてメチル水銀摂取量を推定した結果、メチル水銀摂取量は、全10地域を通じ2.11～15.92 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ の範囲にあり、全国平均は6.7 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ と推定された。

2. PCB類の摂取量推定

TD試料の分析を通じ、PCBs類の摂取量を推定した。今年度の研究から、高分解能GC-MS法を用いることで、209あるPCBsの異性体別測定を可能とし、同じ塩素化数の異性体をまとめた同族体別摂取量、また同族体別摂取量の総和として総PCBs摂取量を推定した。またメチル水銀摂取量推定の場合と同様に、これまでの研究からPCBsはほぼ10群と11群からしか検出されず、かつ10群からの摂取量が支配的であることが明らかになっていることを踏まえ、10群と11群のTD試料のみを分析した。

PCBs摂取量は $\text{ND}=0$ と $\text{ND}=\text{LOD}/2$ の2つの方式により推定した。2つの方式により推定された摂取量を比較すると、10群ではほぼ一致している。11群からの摂取量推定値は、推定方式を

$\text{ND}=\text{LOD}/2$ とした場合にやや高めとなっているが、大きく乖離してはいない。この結果は、十分に感度の高い分析法を採用することで、分析結果がNDとなる機会を極力減らし、LODをより低濃度に設定した効果といえる。ほぼ一致する推定値ではあるが、より安全側に立脚した推定に配慮し、2方式により摂取量を推定した場合には、 $2/\text{LOD}$ の値を以後の集計と考察に用いた。

全10地域を通じ、10群からの総PCBs摂取量は223～558 $\text{ng}/\text{man}/\text{day}$ の範囲、11群から総PCBs摂取量は13.3～88.1 $\text{ng}/\text{man}/\text{day}$ の範囲で推定された。

総PCBs摂取量に占める各同族体摂取量の割合を算出した結果、10群からの総PCBs摂取量は主に3～7塩素化同族体摂取量によって占められており、TD試料の調製地域に依存した変化はなかった。このことから、魚介類からの総PCBs摂取量は主に3～7塩素化同族体摂取量によって占められるのが一般的といえるかもしれない。一方の11群には、この特徴が認められず、総PCBs摂取量に各同族体摂取量が占める割合は地域(試料)ごとに大きく変わっている。11群に分類される畜肉等に含まれるPCBsは、魚介類が海洋環境に含まれるPCBsを食物連鎖も経て蓄積するのに対し、主に餌となる牧草等の摂取によって蓄積されたものと考えられる。PCBsを蓄積する経路の違いや、

生体内での代謝の異なりが、今回得られた同族体摂取量割合の違いの原因であり、10群と11群から摂取するPCBs同族体の特徴といえるのかもしれない。継続研究によって確認すべき課題である。

10群と11群試料の分析からそれぞれ推定したPCBs摂取量の和を求め、推定したPCBs総摂取量は10地域を通じて239～629 ng/man/dayの範囲にあり、全国平均は436 ng/man/dayとなった。

3. 有害元素及びPCBs摂取量の対TDI比と経年変化

今年度本研究で摂取量を推定した元素のうち、耐用摂取量(TDI)の設定されている有害元素(B、Al、Ni、Se、Cd、Sb、Ba、Pb、U)、メチル水銀、PCBs摂取量の対TDI比を求めた。ヒ素の有害性を疑う余地はないが、JECFAによって撤回されたのち、新たな耐用摂取量の設定はされていないため、対TDI比の算出は控えた。今回の推定結果に基づけば、Ni摂取量の対TDI比が78.4%と計算され最も高い。この値に準じてメチル水銀摂取量の対TDI比も50%を超えている。そのほか、B、Al、Se、Cd、Ba摂取量の対TDI比が30%を超えており、年次推移を監視すべきと考える。U摂取量とPb摂取量の対TDI比はそれぞれ約10%と6%であり、上記の有害元素に比べれば低値であるが、Uにつ

いては初めて摂取量を推定した有害元素であるため複数年にわたる監視が必要と考える。

これまで30年以上にわたり推定してきたPb、Cd、As、Hg、PCBsについて、今年度の結果も加えた摂取量推定値の経年変化を解析したところ、As、Hg、Cdの摂取量は30年間にわたりわずかに減少が認められるもののほぼ一定の値で推移していることが確認された。PbとPCBs摂取量は1990年代までに大きく減少して以降ほぼ下げ止まり、安定して推移していた。

対TDI比を指標としてPbとPCBsの摂取量を他の有害元素等の摂取量と比較すると、十分に低下しているとも評価できる。しかし、規制等の場面においてALARAの原則等の適用が図られることに鑑みると、少ないながらも摂取量が推定される間は、検出頻度を踏まえて分析するTD試料の群を限定することや、隔年で摂取量を推定するなどの効率化を図りつつ、継続して監視する必要があると考える。

昨年度までは、TD試料を調製する各協力機関でそれぞれ分析された結果に基づき摂取量を推定してきた。本年度からは、協力機関が調製したすべてのTD試料を国立医薬品食品衛生研究所に集め、同所一機関で分析することに大きく方向転換を図った。分析には、事前に性能評価した分析法を用いた

が、これは分析法の性能に関する客観的な証拠を準備し第三者に開示可能とすることで、摂取量推定値の信頼性を確保することが目的である。年次推移をみる限り、本年度推定された摂取量は、これまでに推定されてきた摂取量と矛盾なく一致している。この一致によって、昨年度までに推定されてきた摂取量の信頼性も、より増したと考える。

E. 結論

本研究により、元素類の全国平均摂取量は B:1523.8 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Al:4687 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Ni:156.8 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Se:90.2 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Cd:17.6 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Sb: 2.2 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Ba:468.4 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Pb:10.4 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、U: 1.0 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、As:213.9 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Sn:228.9 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Cr:30.2 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Co:9.0 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、Mo:225.3

$\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ と推定された。またメチル水銀とPCBsの全国平均摂取量は、それぞれ6.7 $\mu\text{g}/\text{man}/\text{day}$ 、436 ng/man/dayと推定された。耐用摂取量(TDI)が設定されている有害物質については、推定された摂取量推定値が占める割合(対TDI比)を求めた。その結果、Niの78.4%を筆頭に、メチル水銀が50%以上、B、Al、Se、Cd、Baが30%以上、Uが10%以上となった。これら有害物質の摂取量推定は、積極的に継続して実施すべきと考える。またPbとPCBsの対TDI比はそれぞれ5.8%と0.2%であり、上記の有害物質の対TDI比に比べ小さな値ではあるが、規制等の場面においてALARAの原則等の適用が図られることに鑑みると、少ないながらも摂取量が推定される間は、推定方法の効率化を図りつつ、継続して監視する必要があると考える。

1-2. 塩素化ダイオキシン類のトータルダイエット調査

A. 研究目的

TD 試料を用いたダイオキシン類の摂取量推定は、平成9年から厚生科学研究(現在は厚生労働科学研究)費補助金により、ごと年実施されており、国民のダイオキシン類暴露量

とその経年推移に関する知見が得られている。国民平均のダイオキシン類摂取量を推定するため、本年度は全国7地区8機関において日本人の平均的な食品摂取に従ったTD試料を調製し、試料中のダイオキシン類

を分析し、1日摂取量を推定した。また、今年度は新たにハイリスク集団と考えられる幼児におけるダイオキシン類摂取量を推定するため、幼児の食品摂取に従ったTD試料を作製し、試料中のダイオキシン類を分析し、1日摂取量を推定した。

B. 研究方法

1. 試料

1-1. 日本人の平均的なTD試料

国民平均のダイオキシン類摂取量を推定するためのTD試料は、全国7地区の8機関で調製した。厚生労働省が実施した平成20～22年度の国民健康・栄養調査の地域別食品摂取量(1歳以上)を項目ごとに平均し、各食品の地域別摂取量とした。TD試料は、有害物質の摂取量推定研究と同様、14群に分けて調製した。

1～9群、及び12～14群の試料は、各機関で1セット調製した。10及び11群はダイオキシン類の主要な摂取源であるため、8機関が各群3セットずつ調製した。これら3セットの試料は、魚種、産地、メーカー等が異なる食品を合一し調製した。昨年度までの研究では、12群についても各機関で3セットの試料調製を実施したが、12群のダイオキシン類摂取量に占める割合が低下しており、平成19年度以降の割合は2.1%以下であった。

そのため、12群からのダイオキシン類摂取量は全体に占める割合が高いとは言えないため、今年度より各機関で1セットの試料作製とした。

各機関で3セットずつ調製した10及び11群の試料はそれぞれの試料を分析に供した。一方、1～9群及び12～14群は、各機関の食品摂取量に応じた割合で混合した共通試料とし、分析に供した。

1-2. 幼児のTD試料

国民健康栄養調査データ(平成20～22年度)を集計し、幼児(1-3歳)の食事摂取に従ったTD試料を作製した。なお、14群として分類される飲料水については、ダイオキシン類摂取量に対する寄与が極めて少ないことが現在までの研究により明らかとなっているため、分析対象より除いた。

2. 分析対象項目及び検出限界

分析対象項目は、WHOが毒性係数(TEF)を定めたPCDDs 7種、PCDFs 10種及びCo-PCBs 12種の計29種とした。

3. 分析方法

ダイオキシン類の分析法は、「食品中のダイオキシン類測定方法ガイドライン」(厚生労働省、平成20年2

月)に従った。

4. 推定結果の表記

推定結果は、1日摂取量を体重あたりの毒性等量(pgTEQ/kg bw/day)で示した。TEQの算出には2005年に定められたTEFを使用し、分析値が検出限界値未満の異性体濃度をゼロとして計算した値(以下、ND=0と略す)と、個々の異性体の検出限界値濃度の1/2として計算した値(以下、ND=LOD/2と略す)を示した。

C. 研究結果及び考察

1. 国民平均のダイオキシン類摂取量推定

7地区の8機関において調製した平均的な食品摂取を模したTD試料を分析し、ダイオキシン類摂取量及び各群からの摂取割合を算出した。

1-1. PCDD/PCDFs 摂取量

PCDD/PCDFsの1日摂取量は、ND=0として推定した場合、平均9.15(範囲:1.48~22.23)pgTEQ/dayであった。これを、日本人の平均体重を50kgとして、体重(kg)あたりの1日摂取量に換算すると、平均0.18(範囲:0.03~0.44)pgTEQ/kg bw/dayとなった。平成24年度は平均0.21(範囲:0.07~0.43)pgTEQ/kg bw/dayであり、今年度の平均値はほぼ同等で

あった。

ND=LOD/2として推定した場合のPCDD/PCDFsの1日摂取量は、平均48.11(範囲:41.38~59.72)pgTEQ/dayであり、体重あたり平均0.96(範囲:0.83~1.19)pgTEQ/kg bw/dayであった。

PCDD/PCDFs摂取量に対する寄与率が高い食品群は、ND=0の場合、10群(魚介類)80.1%、11群(肉・卵類)17.4%であり、これら2群で全体の97.6%を占めた。

ND=LOD/2の場合は、高い順に9群(酒類、嗜好飲料)22.8%、10群16.7%、1群(米、米加工品)15.8%であった。ND=0の場合には、9群及び1群の寄与はほとんどゼロであるが、これらの食品群は摂取量が多いため、全てのダイオキシン類分析値がNDであっても、それをLOD/2の濃度として計算に含め推定値を算出すると、その結果として摂取量が高く推定され、寄与率も高くなっている。

1-2. Co-PCBs 摂取量

Co-PCBsの1日摂取量は、ND=0の場合、平均19.71(範囲:7.74~32.9)pgTEQ/dayであり、体重あたり平均0.39(範囲:0.15~0.66)pgTEQ/kg bw/dayであった。平成24年度は平均0.48(範囲:0.15~0.85)pgTEQ/kg bw/dayであり、今年度の平均値はや

や低い値であった。

ND=LOD/2 の場合の摂取量は、平均 32.69(範囲 : 20.91 ~ 45.58)pgTEQ/day であり、体重あたりとすれば、平均 0.65(範囲 : 0.42 ~ 0.91)pgTEQ/kg bw/day であった。

Co-PCBs 摂取量に対する寄与率が高い食品群は、ND=0 の場合、10 群(魚介類)96.2%、11 群(肉・卵類)3.5%であり、これら 2 群で全体の 99.7%を占めた。

ND=LOD/2 の場合は、高い順に 10 群 58.0%、9 群 11.4%、1 群 7.9%であった。PCDD/PCDFs の場合と同様に、9 群及び 1 群からの寄与率が高くなった。

1-3. ダイオキシン類摂取量

PCDD/PCDFs と Co-PCBs を合わせたダイオキシン類の 1 日摂取量は、ND=0 の場合、平均 28.86(範囲 : 9.22 ~ 48.37)pgTEQ/day であり、体重あたり摂取量は平均 0.58(範囲 : 0.18 ~ 0.97)pgTEQ/kg bw/day であった。日本における TDI(4 pgTEQ/kg bw/day) の 15%程度であり、最大値の 0.97 pgTEQ/kg bw/day も TDI の 25%程度であった。平成 24 年度は平均 0.69 (範囲 : 0.22 ~ 1.22)pgTEQ/kg bw/day であり、今年度の平均値はやや低い値であった。

ND=LOD/2 の場合の 1 日摂取量は、

平均 80.79(範囲 : 62.29 ~ 98.96)pgTEQ/day であり、体重あたり摂取量は平均 1.62(範囲 : 1.25 ~ 1.98) pgTEQ /kg bw/day であった。

ダイオキシン類摂取量に対する寄与率が高い食品群は、ND=0 の場合、10 群(魚介類)91.1%、11 群(肉・卵類)7.9%であり、これら 2 群で全体の 99.0%を占めた。ND=LOD/2 の場合は、高い順に 10 群 33.4%、9 群(酒類、嗜好飲料)18.2%、1 群(米、米加工品)12.6%であり、PCDD/PCDFs 及び Co-PCBs の場合と同じく 1 群及び 9 群の寄与率が高かった。

ダイオキシン類摂取量に占める Co-PCBs の割合は、ND=0 の場合、68%であった。Co-PCBs からの摂取率は平成 23~24 年度が 70%であり、ほぼ 7 割を推移している。

本調査研究では、ダイオキシン類摂取への寄与が大きいの 10 群、及び 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。これまでの調査結果と同様に、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 1.2~3.5 倍の開きがあった(平成 25 年度)。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、各試料に合一した魚種、個体等の差が影響しているものと考えられる。