

ジ、チーズの計 5 種の食品を、2 種の異なる燻製チップ(サクラ及びヒッコリー)により燻製した(各条件で 2 施行)。各食品とも温燻による重量変化が生じ、温燻前と比較して塩サケ 1、塩サケ 2、塩サバでは 13~24%、ソーセージでは 11~12%、チーズは 8~10%、温燻により重量が減少した。PAHs 濃度については、5 種の食品について温燻前の PAHs 濃度は非常に低く、2 試料で CHR が定量下限値をやや上回る濃度で検出された。一方、温燻後は全ての食品において多数の PAHs が定量下限値以上となった。

燻製試料中の PAHs 濃度を温燻前重量に換算し、さらにブランク値を減算した結果からは、いずれの食品においても BCL が最も高い濃度で含有されており、その他、BAA、CHR、BAP も比較的高い濃度で含まれていることが明らかになった。これら 4 つの PAHs が全体に占める割合は 86%以上であった。これらの傾向は熱燻と類似していた。しかし、サクラとヒッコリーで含有される PAHs 濃度を比較すると、塩サケ 1 とソーセージではサクラの方が若干高いが、それ以外ではヒッコリーの方が高かった。熱燻のようにサクラの PAHs 濃度の方がヒッコリーよりも高い傾向は窺えなかった。また同種の食材(塩サケ 1、塩サケ 2、塩サバ、ソーセージ)が含む PAHs 濃度について

熱燻と温燻を比較した場合、いずれの場合も温燻の PAHs 濃度が低かった。温燻と熱燻では燻製温度や時間、その他、煙の発生源となる燻製木材の形状(チップあるいはウッド)の違いなどがあり、これらが温燻と熱燻の PAHs 濃度の違いに影響を与えていると考えられる。また、温燻で使用する燻製ウッドは自火燃焼で発煙を維持するため、発煙が安定しないこともあり、これらの影響についても留意する必要があると考えられる。

D. 結論

1)実態調査の結果、鰹節等を風味原料に使用した顆粒・粉末調味料の PAHs 含有濃度が高いことが明らかとなった。特に低分子量の PAHs の含有濃度が高い傾向があった。最も BAP 濃度が高かった調味料について、BAP 摂取量を試算した結果、本製品からの BAP 摂取による健康への懸念は小さいと考えられた。

2)熱燻と温燻により食品が含有した PAHs の組成は BCL、BAA、CHR、BAP が主であった。熱燻では検討した全ての食品でサクラの方がヒッコリーよりも PAHs 濃度が高かったが、温燻ではヒッコリーの PAHs 濃度が高くなった食品があった。また、温燻の PAHs 濃度は熱燻よりも低かった。

1-6. 水酸化 PCBs 濃度の実態調査

A. 研究目的

生物試料や水底質等の媒体から、種々の PCB 代謝物を検出した事例が報告されている。PCB 代謝物は、環境中に残留する PCB が生物により代謝されることで生成し、一部の PCB 代謝物は母化合物の PCB よりも強い毒性を有することが明らかにされている。OH-PCBs は代表的な PCB 代謝物であり、ヒトの血液中に存在する甲状腺ホルモン輸送タンパク質と高い親和性を有し、甲状腺ホルモン量の低下をもたらすとされ、その毒性が懸念されている。現在までに食品中の PCB 代謝物の分析法は確立されておらず、当該物質による食品の汚染頻度や濃度の実態は明らかでない。食品中の PCB 代謝物の濃度実態を明らかにすることは、ヒトによる PCB 代謝物の摂取の可能性を考察し、さらには摂取された後の体内における代謝を理解する上で非常に重要である。

本研究では PCB 代謝物である OH-PCBs について、汚染の蓋然性が高い魚介類試料を対象に濃度の実態を調査するとともに、同時に調査した PCBs 濃度との比較により残留性の違いについて考察した。

B. 研究方法

1 試料・試薬等

1.1 試料

平成 25 年度に福岡県内の食料品店で

生鮮魚介類 16 点(主に九州地区を産地とする)を購入し、可食部を採取し、細切・均一化したものを試料とした。

1.2 標準物質

38 種類の OH-PCBs 標準液はすべて Accu Standard 製を用い、ノナンで 100 ng/mL に希釈して用いた。OH-PCBs 測定用クリーンアップスパイクは Wellington Laboratories 製の 6 種混合標準液 (MHPCB-MXA) と Accu Standard 製の各化合物の標準液をアセトニトリルで 100 ng/mL に調製して使用した。68 種類の PCBs 標準液と 20 種類の $^{13}\text{C}_{12}$ -PCBs 標準液は Wellington Laboratories 製を用いた。HRGC/HRMS 測定用標準液はノナンで 1 ng/mL、PCB 測定用クリーンアップスパイク標準液はノナンで 100 ng/mL に希釈して用いた。OH-PCBs 及び PCBs 測定におけるシリンジスパイクは Wellington Laboratories 製の $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',5,5'-pentachlorobiphenyl($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB111)をノナンで 50 ng/mL に希釈して用いた。

1.3 試薬及び器材

アセトン、ヘキサン、ジクロロメタン、ノナン、エタノール、ジエチルエーテル、蒸留水(ヘキサン洗浄品)、無水硫酸ナトリウム及び塩化ナトリウムは関東化学製のダイオキシン類分析用又は残留農薬・PCB 試験用を用いた。硫酸は和光純薬工業製の有害金属測定用、水酸化カリウムは和

光純薬工業製の特級試薬、硫酸ジメチルは関東化学製の鹿一級を使用した。シリカゲル(Wakogel DX)22%硫酸シリカゲル、44% 硫酸シリカゲル、10% 硝酸銀シリカゲルは和光純薬工業製ダイオキシン類分析用を用いた。珪藻土は International Sorbent Technology 製の BULK ISOLUTE SORBENT HM-N を用いた。フロリジルカートリッジカラムは Waters 製の Sep-pak Vac RC (500 mg) 及び Sep-pak Florisil plus cartridge(910 mg)を使用した。

2 機器及び使用条件

2.1 高分解能ガスクロマトグラフ・質量分析計(HRGC/HRMS)

HRGC/HRMS の GC は Agilent 製 6890N を MS は Waters 製 AutoSpec Premier を使用した。

2.2 ホモジナイザー

魚介類からの OH-PCBs の抽出では、Kinematic 製ポルトロンホモジナイザーを使用した。抽出条件は下記の通りとした。回転速度:10,000 rpm、抽出時間:10 分、抽出回数:2 回、抽出溶媒:アセトニトリル

2.3 高速溶媒抽出装置

魚介類からの PCBs の抽出では、DIONEX 製の高速溶媒抽出(ASE)を使用した。

3 実験操作

3.1 魚介類中の OH-PCBs の分析操作

試料約 10 g を 50 mL の遠沈管に秤取りし、クリーンアップスパイクを各 500 pg を添

加した。これに抽出溶媒としてアセトニトリル 30 mL を加え、ホモジナイザーにより攪拌抽出した。遠心分離(3,000 rpm、10 分)により固液を分離し、液層(アセトニトリル層)を 100 mL 分液ロートに移し、再度攪拌抽出を行った。2 回の攪拌抽出で得られたアセトニトリルを混合し、その混合液にアセトニトリル飽和ヘキサン 20 mL を加え、振とう抽出により 2 回洗浄した。洗浄したアセトニトリル層を 300 mL 分液ロートに移し、10% 塩化ナトリウム水溶液 250 mL とヘキサン 50 mL を加え、振とう抽出(3,000 rpm、5 分)により有機層(ヘキサン層)に OH-PCBs を抽出した。再度、同様に抽出を行い、ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムを用いてヘキサン層を脱水した。ヘキサン溶液をロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、10 mL スピッツ管に移し、約 1 mL まで窒素気流下で濃縮した。フロリジル精製では、あらかじめ 0.5% ジエチルエーテル/ヘキサン 10 mL でコンディショニングしたフロリジルカラムに上記の 1 mL ヘキサン層を負荷し、0.5% ジエチルエーテル/ヘキサン 6 mL で不純物を除去後、次いで、50% アセトン/メタノール 8 mL で溶出した画分を 10 mL スピッツ管に取り、溶出液を窒素ガス気流で穏やかに濃縮乾固した。OH-PCBs の誘導體化(メチル化)では、上記スピッツ管に硫酸ジメチル 0.5 mL を添加し、3 mol/L KOH/エタノール(10%含水)3.5 mL を発泡に注意しながら、少量ずつボルテックスで

攪拌しながら添加し、70°Cで1時間静置した。静置後、5% NaCl水溶液4 mLを加え、ヘキサン2 mLで2回振とうし、誘導体化されたOH-PCB(以下、OMe-PCBs)を抽出した。そのヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、窒素ガス気流で穏やかに1 mLまで濃縮した。2回目のフロリジル精製では、あらかじめ5% ジエチルエーテル/ヘキサン10 mLでコンディショニングしたフロリジルカラムに上記の1 mLヘキサン層を負荷し、5% ジエチルエーテル/ヘキサン8 mLでOMe-PCBsを10 mLスピッツ管に溶出した。得られた溶出液を窒素ガス気流で穏やかに濃縮し、濃縮液を測定バイアルに移し、シリンジスパイク(¹³C-PCB111を500 pg相当)を添加した。ノナンで全量を約50 µLとしたものを最終検液とし、このうち2 µLをHRGC/HRMSに注入し、OMe-PCBsとして定量した。

3.2 魚介類中のPCBsの分析操作

均一化した魚介類試料の約10 gを250 mL容テフロン製遠沈管に秤量し、珪藻土約20 gを加えて混合した。混合物をASE-350用のステンレス製抽出セル(99 mL容)に充填し、クリーンアップスパイク500 pgを添加し、高速溶媒抽出を行った。抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水し、濃縮乾固した。アルカリ分解では、濃縮残渣をエタノール6 mLで溶解し、300 mL容分液ロートに移し、1 mol/L水酸化カリウム/エタノール100 mLを加え、振とうした

(3,000 rpm、5分)。振とう後、10%塩化ナトリウム水溶液100 mLを加え、ヘキサン50 mLで2回振とう抽出(3,000 rpm、10分間)した。2回の抽出液を混合し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーターで濃縮し、50 mL容遠沈管に移し、ヘキサンで約5 mLとした。硫酸処理では、遠沈管に濃硫酸10 mLを加え、振とうし、一夜放置した。放置後、遠心分離し、ヘキサン層を多層シリカゲルカラムで精製した。多層シリカゲルカラム精製では、内径1.5 cmのガラスカラムを石英ウールで密栓した後、無水硫酸ナトリウム2 g、シリカゲル0.3 g、2%水酸化カリウム-シリカゲル1 g、シリカゲル0.3 g、44%硫酸シリカゲル1.5 g、22%硫酸シリカゲル2 g、シリカゲル0.3 g、10%硝酸銀シリカゲル1 g、無水硫酸ナトリウム2 gの順に乾式充填し、ヘキサン100 mLで洗浄して用いた。濃硫酸処理したヘキサンを多層シリカゲルカラムに負荷し、ヘキサン100 mLを200 mL容ナス型フラスコに溶出した。溶出液をロータリーエバポレーターと窒素ガス気流で濃縮し、測定バイアルに移し、シリンジスパイク(¹³C-PCB111を500 pg相当)を添加した。ノナンで全量を約50 µLとしたものを最終検液とし、このうち1 µLをHRGC/HRMSに注入して測定した。

C. 研究結果及び考察

1 市販魚介類試料中のOH-PCBs濃度

魚介類16試料のOH-PCBsを異性体

別に分析した結果、4'-OH-CB 107、4-OH-CB 146、3'-OH-CB 138、4-OH-CB 187 及び 4'-OH-CB 172 は、すべての試料で検出された。魚介類 16 試料における各異性体の平均濃度で評価した場合、定性可能な異性体のうち 4-OH-CB1(組成比:3.5%)、3'-OH-CB 65(組成比:2.5%)、6'-OH-CB 101(組成比:12%)、4'-OH-CB 101(組成比:3.0%)、4'-OH-CB 86/4'-OH-CB 112(組成比:2.4%)、4'-OH-CB 106(組成比:2.3%)、4'-OH-CB 165(組成比:2.1%)、4-OH-CB 172(組成比:15%)が主要な異性体であった。魚介類 16 試料では、水酸化一塩素化ビフェニル(以下、OH-MoCBs)濃度は平均 0.016 ng/g (ND-0.12 ng/g)、水酸化二塩素化ビフェニル(以下、OH-DiCBs)濃度は平均 0.070 ng/g (ND-0.30 ng/g)、水酸化三塩素化ビフェニル(以下、OH-TrCBs)濃度は平均 0.0026 ng/g(ND-0.0086 ng/g)、水酸化四塩素化ビフェニル(以下、OH-TeCBs)濃度は平均 0.010 ng/g(0.0019-0.026 ng/g)、水酸化五塩素化ビフェニル(以下、OH-PeCBs)濃度は平均 0.026 ng/g (0.0049-0.21 ng/g)、水酸化六塩素化ビフェニル(以下、OH-HxCBs)濃度は平均 0.0074 ng/g (0.0052-0.012 ng/g)、水酸化七塩素化ビフェニル(以下、OH-HpCBs)濃度は平均 0.0040 ng/g(0.0027-0.0087 ng/g)であった。ΣOH-PCBs 濃度は平均で 0.14 ng/g であり、タラで最小 0.020 ng/g、マグロ大トロで

最大 0.56 ng/g であった。同族体組成比をみると、OH-MoCBs と OH-DiCBs が主要同族体である試料と OH-PeCBs と OH-HxCBs が主要同族体である試料とに大きく分けられることが示唆された。しかし今回得られた結果に限れば、必ずしも同種の魚種で主要同族体は一致してはおらず、PCBs 濃度のように脂肪含量等との関連性はなかった。どのような同族体を蓄積するかは、代謝能や保持能、餌等、様々な要因によっても変化する可能性があり、より多数のデータがなければ一概に結論付けることはできないと考えられた。

2 市販魚介類試料中の PCBs 濃度

魚介類 16 試料の PCB 同族体濃度を、一塩素化ビフェニル(以下、MoCBs)、二塩素化ビフェニル(以下、DiCBs)を除く 194 異性体の分析結果から算出した。また、総 PCBs 濃度は、194 異性体濃度の和とした。分析した魚介類 16 試料について、三塩素化ビフェニル(以下、TrCBs)濃度は平均 0.23 ng/g(0.029-0.94 ng/g)、四塩素化ビフェニル(以下、TeCBs)濃度は平均 1.0 ng/g(0.061-5.1 ng/g)、五塩素化ビフェニル(以下、PeCBs)濃度は平均 2.5 ng/g(0.064-15 ng/g)、六塩素化ビフェニル(以下、HxCBs)濃度は平均 3.6 ng/g(0.040-20 ng/g)、七塩素化ビフェニル(以下、HpCBs)濃度は平均 1.6 ng/g (0.0093-8.0 ng/g)、八塩素化ビフェニル(以下、OcCBs)濃度は平均 0.22 ng/g (0.0010-1.1 ng/g)、九塩素化ビフェニル

(以下、NoCBs)濃度は平均 0.032 ng/g (ND-0.20 ng/g)、十塩素化ビフェニル(以下、DeCB)濃度は平均 0.022 ng/g (0.00037-0.12 ng/g)であった。総 PCBs 濃度の平均は9.2 ng/gであった。また、16 試料中の最少濃度はタラの 0.20 ng/g、最大濃度はマグロ大トロの 50 ng/g であり、これまでの報告と同様に、脂肪含量が高いほど総 PCBs 濃度が高くなる傾向にあった。魚介類 16 試料における PCB の同族体組成比を検討した結果、PeCBs の比率が最も高く、次いで HxCBs の比率が高かった。得られた組成比は工業用 PCB 製品である KC500-KC600(1:1)の同族体組成比に類似しており、工業製品に由来する同族体を生物濃縮した結果を反映しているのかもしれない。タラの同族体組成比は、TeCBs と PeCBs の比率が高く、KC400 と KC500 の PCB 塩素数別組成比への類似が指摘される。

2.3 市販魚介類試料中の PCBs と OH-PCBs 濃度の比較

魚介類 16 試料の総 PCBs 並びに総 OH-PCBs を算出し、それらの比(総 OH-PCBs/総 PCBs)を求めた。その結果、総 OH-PCBs/ 総 PCBs は、平均 0.046(0.0014-0.22)であった。

D. 結論

魚介類中の OH-PCBs 分析においては、分析した 16 試料すべてから OH-PCBs が検出され、その湿重量当たりの濃度範囲は 0.020 ng/g ~ 0.56 ng/g(平均 0.14 ng/g)であった。OH-PCBs の濃度に魚種による明確な違いは認められず、試料に含まれる脂肪量との間に正の相関も確認されなかった。OH-PCBs の同族体組成比は、OH-MoCBs と OH-DiCBs を主要同族体とする試料と、OH-PeCBs と OH-HxCBs を主要同族体とする試料に分類することができた。魚介類中の PCBs 分析においては、測定した 16 試料すべてから PCBs が検出され、その湿重量当たりの濃度範囲は 0.20 ng/g ~ 50 ng/g(平均 9.2 ng/g)であり、魚種別ではマグロやブリで濃度が高い傾向があり、脂肪含量との相関が見られた。PCBs の同族体組成比はタチウオを除き、PeCBs と HxCBs の組成が約 60 %であった。PCBs 調査結果は、これまで報告してきた結果(8)9)と類似していた。

調査した魚 16 試料中の総 OH-PCBs 濃度と総 PCBs 濃度との比は、0.0014-0.22(平均 0.046)であり、過去の調査結果と同程度の値であることが確認された。

2. 摂取量の精密化研究

2-1. 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

A. 研究目的

本研究班では、MB方式により調製したTD試料を分析することにより、重金属類、PCBs、ダイオキシン類のような有害物質の摂取量推定を、継続して実施している。MB方式によるTD試料の調製に使用する食品の量は、国民健康・栄養調査で得られたそれぞれの食品小分類の1日摂取量を解析して得た平均値である。この平均値に基づくTD試料を調製し分析することを通じて、国民全体を平均した食事からの各種有害物質摂取量の推定が可能となる。しかし、幼児や高齢者のような特定のグループは、食品摂取パターンが全年齢層の平均とは異なることから、これらグループにおける有害物質摂取量もまた、国民全体の摂取量(全年齢層平均摂取量)とは異なる。

昨年度の本分担課題では、特定のグループにおける摂取量推定を行う基礎情報として、年齢層別の食品摂取量パターンを比較した。その結果、体重1kg当たりの食品摂取量は、1-3歳の幼児で最も大きく、成長と共に小さくなり、高齢者でやや増加することが明らかとなった。食事の内容が、幼児と全年齢層平均との間で大きく異なっ

ていなければ、有害物質摂取量は幼児で最も大きくなる可能性が高いと考えられたため、1-3歳の幼児の平均的食事を模したTD試料(TD_{inf})を調製した。

TD_{inf}と同時に、ほぼ同一の食材を使用し、関東地方の全年齢層の平均的食事を模したTD試料(TD_{ave})も調製した。これら2つのTD試料のダイオキシン類及び各種元素濃度は、本研究の他の研究課題の中で分析され、それぞれの摂取量が推定された。

本年度は、TD_{inf}とTD_{ave}の分析を通じて推定されたダイオキシン類並びに各種元素の摂取量を比較することにより、TD_{ave}を用いて推定した有害物質摂取量から、幼児の摂取量を推定する可能性、及び摂取量推定値に与える試料の差による影響を検討した。

また、グループ毎の食品摂取パターンをより精密に評価するため、昨年度実施しなかった、性別毎の食品摂取量を評価するとともに、引き続きTD_{inf}を調製した。

I. 幼児と全年齢平均の試料から推定された摂取量の比較

I-B. 研究方法

平成 25 年度に調製した TD_{ave} 及び TD_{inf} から推定された、ダイオキシン類並びに各種元素の全年齢層平均摂取量と幼児の摂取量を比較し、両者の差に及ぼす試料の影響を評価した。比較には、 $ND=0$ とした摂取量推定値を用いた。

I-C. 結果

幼児及び全年齢層平均の体重当たり食品摂取量の比較

体重 1 kg 当たりの全年齢層平均食品摂取量と幼児の食品摂取量を比較した結果、幼児における食品摂取量が全年齢層平均摂取量の 1.77 倍であった。群ごとの体重当たり食品摂取量の比は 1.02~4.86 の範囲にあり、最も比が小さいのは嗜好飲料の群(9 群; 1.02)、大きいのは牛乳・乳製品の群(12 群; 4.86)であった。幼児の体重当たり食品摂取量が全年齢平均を下回る食品群は見られなかった。

体重当たりのダイオキシン類及び各種元素の摂取量

本研究で幼児と全年齢層平均の有害物質摂取量を比較するために使用した TD_{inf} 及び TD_{ave} は、基本的には同一の食品を用いて調製されているが、幼児における食事の特性を考慮して、一部の食品を置き換えた。 TD_{inf} 及び TD_{ave} のダイオキシン類の濃度から推定された、幼児及び全年齢層平均の

体重当たり摂取量は、 $0.46 \text{ pg TEQ/kg bw/day}$ 及び $0.37 \text{ pgTEQ/kg bw/day}$ で、その比は 1.24 であった。 TD_{inf} 及び TD_{ave} の各種元素濃度に基づき推定された幼児及び全年齢層の体重当たり摂取量は、元素類の全体として、幼児において全年齢層平均よりも大きく、その比は 1.5 付近になる場合が多かった。前述のように、1 日に摂取する体重当たりの全食品摂取量の比は全年齢層平均と幼児との間で 1.77 であり、体重当たり摂取量の比はこれよりやや小さいが同程度の値となった。

対応する食品群の TD_{inf} と TD_{ave} の有害物質濃度が同程度であれば、その有害物質の体重当たりの摂取量の比は、体重当たりの食品摂取重量の比と同じになると考えられる。そのような場合は、 TD_{ave} の濃度から幼児あるいは他の年齢層における体重当たり有害物質摂取量をある程度推定可能となる。また、対応する食品群試料の濃度が大きく異なる場合は、2 つの試料中に、その有害物質濃度が極度に高い食品が含まれたことが疑われ、その量の試料全体に対する比が違うと考えられる。このような場合には、 TD_{ave} の濃度から他の年齢層における摂取量を推定することはできない。以下、対象となる有害物質ごとに、濃度、体重当たりの有害物質摂取量を比較した。

ダイオキシン類

ダイオキシン類はその 90%以上を魚介類の群(10 群)から摂取しているため、10 群からの摂取量を比較した。TD_{inf} 及び TD_{ave} としてそれぞれ調製した 10 群試料のダイオキシン類濃度は 0.29 pgTEQ/g と 0.26 pTEQ/g でほぼ同じであった。幼児と全年齢層平均の体重当たりの 10 群摂取量比は 1.27 で、体重当たりの全食品摂取量の比である 1.77 より小さい値であった。TD_{inf} 及び TD_{ave} の分析結果から推定したダイオキシン類摂取量は 0.46 及び 0.37 pgTEQ/kg bw/day (ND=0 とした場合)と推定され、幼児の摂取量推定値は全年齢層の摂取量推定値の 1.24 倍となり、10 群の体重当たり摂取量比と同程度となった。10 群の TD_{inf} と TD_{ave} に含めた食品は、明太子をタラコに置き換えた以外は同一であり、種類を特定した個別の魚介類の区分ごとの摂取重量割合も大きく違わなかったことから、両試料のダイオキシン類濃度がほぼ等しく、体重当たりダイオキシン類摂取量と体重当たりの食品群摂取量が、同程度になったと考えられた。

ホウ素

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のホウ素濃度は、油脂の群(4 群)と嗜好飲料の群(9 群)以外は、20%程度の差であり、概ね等しかった。ホウ素濃度の高

い食品群は、豆類の群(5 群)と淡色野菜・漬物の群(8 群)であった。4 群と 9 群のホウ素濃度は違いが大きかったものの、そもそもの濃度が他の群と比較して非常に低く、推定される摂取量への影響は少ないと考えられた。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりのホウ素摂取量は、53.1 µg/kg bw/day 及び 33.9 µg/kg bw/day であった。両者の比は 1.57 となり体重当たりの全食品摂取量の比である 1.77 をやや下回った。

アルミニウム

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のアルミニウム濃度比は、その他の野菜・漬物・きのこ・海藻の群(8 群)、嗜好飲料の群(9 群)では TD_{inf} が TD_{ave} の 50% 及び 30%であり、乳(12 群)では TD_{inf} が TD_{ave} の 9.4 倍となった。アルミニウム濃度の高い群は 8 群で、その濃度は他の群の 10 倍以上であり、アルミニウム摂取量に対する寄与も大きいことから、9 群及び 12 群の濃度の違いが摂取量与える影響は非常に少ないと考えられた。

推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりアルミニウム摂取量は、303 µg/kg bw/day 及び 426 µg/kg bw/day であった。両者の比は 0.71 となり体重あたりの全食品摂取量の比である 1.77 の 1/2 以下となった。摂取量への寄与の大きい 8 群試料のアル

ミニウム濃度が、 TD_{inf} において TD_{ave} の48%であったことから、両試料濃度から推定された摂取量が大きく異なつたと考えられる。

クロム

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のクロム濃度比は、米の群(1群)と果実の群(6群)では TD_{inf} が TD_{ave} の2倍以上、嗜好飲料の群(9群)では30%となつた。一方、クロム濃度の高い食品群はその他の野菜・漬物・きのこ・海藻の群(8群)と砂糖・菓子の群(3群)であつたが、これら食品群においては TD_{inf} と TD_{ave} との間で濃度の差が小さかつた。摂取量への寄与は、 TD_{inf} 及び TD_{ave} 共に8群が最も大きかつた。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりのクロム摂取量は、 $1.20 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 及び $0.854 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ であつた。両者の比は1.41となり体重当たりの全食品摂取量の比である1.77をやや下回つた。

コバルト

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のコバルト濃度比は、嗜好飲料の群(9群)で TD_{inf} が TD_{ave} の14%となつた他は、大きな違いは見られなかつた。コバルト濃度の高い食品群は野菜・漬物・きのこ・海藻の群(8群)、豆の群(5群)、砂糖・菓子の群(3群)、魚の群(10群)などであつたが、摂取量への寄与は、 TD_{inf} 及び TD_{ave} 共に8群が最も大き

かつた。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりのコバルト摂取量は、 $0.424 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 及び $0.300 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ であつた。両者の比は1.41となり体重当たりの全食品摂取量の比である1.77よりやや小さかつた。

ニッケル

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のニッケル濃度比は、乳の群(12群)で TD_{inf} が TD_{ave} の15倍となつた。その他に、油脂の群(4群)では2倍、果実の群(6群)では0.43倍、嗜好飲料の群(9群)では0.26倍となつたが、これらの食品群のニッケル濃度は比較的低かつた。ニッケル濃度の高い食品群は豆の群(5群)とその他の野菜・漬物・きのこ・海藻の群(8群)であり、摂取量への寄与は、 TD_{inf} 及び TD_{ave} 共に8群が最も大きかつた。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりのニッケル摂取量は、 $5.55 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 及び $3.82 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ であつた。両者の比は1.45となり体重当たりの全食品摂取量の比である1.77よりやや小さかつた。

ヒ素

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のヒ素濃度比は、果実の群(6群)で TD_{inf} が TD_{ave} の9倍、有色野菜の群(7群)で2倍となつた。これらの食品群のヒ素濃度は非常に低かつた。ヒ素濃度の高い食品群はその他の野菜・漬物・きのこ・

海藻の群(8群)と魚介類の群(10群)であり、摂取量への寄与は、 TD_{inf} 及び TD_{ave} 共に 10群が最も大きかった。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりのヒ素摂取量は、 $6.81 \mu\text{g/kg bw/day}$ 及び $4.18 \mu\text{g/kg bw/day}$ であった。両者の比は 1.63 となり体重当たりの全食品摂取量の比である 1.77 に近い値であった。

セレン

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のセレン濃度比は、全ての食品群で 2倍以上あるいは 1/2以下となることはなかった。セレン濃度の高い群は魚介類の群(10群)と肉・卵の群(11群)であり、摂取量への寄与は、 TD_{inf} 及び TD_{ave} 共に 10群が最も大きかった。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりセレン摂取量は、 $2.90 \mu\text{g/kg bw/day}$ 及び $1.75 \mu\text{g/kg bw/day}$ であった。両者の比は 1.66 となり体重当たりの全食品摂取量の比である 1.77 に近い値であった。

モリブデン

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のモリブデン濃度比は、嗜好飲料の群(9群)で TD_{inf} が TD_{ave} の 0.26 倍となった以外は、全ての食品群で同程度の濃度であった。モリブデン濃度の高い食品群は米の群(1群)と豆の群(5群)であり、摂取量への寄与は、 TD_{inf} 及び TD_{ave} 共に 1群が最も大きかった。推定された

幼児及び全年齢層平均の体重当たりヒ素摂取量は、 $6.08 \mu\text{g/kg bw/day}$ 及び $3.67 \mu\text{g/kg bw/day}$ であった。両者の比は 1.66 となり体重当たりの全食品摂取量の比である 1.77 に近い値であった。

カドミウム

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のカドミウム濃度比は、油脂の群(4群)で TD_{inf} が TD_{ave} の 11 倍、乳の群(12群)で 9 倍となった。また、嗜好飲料の群(9群)で TD_{inf} が TD_{ave} の 0.22 倍となった。これらの食品群のカドミウム濃度は非常に低く、摂取量への寄与は極めて小さいと考えられた。カドミウム濃度の高い食品群はその他の野菜・漬物・きのこ・海藻の群(8群)、豆の群(5群)、魚介類の群(10群)であり、摂取量への寄与は、 TD_{inf} 及び TD_{ave} 共に 8群が最も大きかった。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりのカドミウム摂取量は、 $0.480 \mu\text{g/kg bw/day}$ 及び $0.292 \mu\text{g/kg bw/day}$ であった。両者の比は 1.64 となり体重当たりの全食品摂取量の比である 1.77 に近い値であった。

スズ

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のスズ濃度比は、米の群(1群)と肉・卵の群(11群)で TD_{inf} が TD_{ave} のおよそ 5 倍となる一方、嗜好飲料の群(9群)で TD_{inf} が TD_{ave} の 0.11 倍となった。こ

これらの食品群の内、11群のスズ濃度は最も高く、摂取量への寄与も TD_{inf} 及び TD_{ave} 共に11群が最も大きかった。しかし、全食品からのスズ摂取量に対する11群の寄与は幼児では79%、全年齢層平均では38%となり、大きく異なっていた。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりのスズ摂取量は、 $0.481 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 及び $0.110 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ であった。両者の比は4.39となり体重当たりの全食品摂取量の比である1.77の倍以上となった。

アンチモン

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のアンチモン濃度比は、米の群(1群)で TD_{inf} が TD_{ave} の2.4倍、油脂の群(4群)で2.9倍、果実の群(6群)で5.2倍となった。4群試料のアンチモン濃度は低く摂取量への寄与は極めて小さいと考えられた。 TD_{ave} でアンチモン濃度の高い食品群はその他の野菜・漬物・きのこ・海藻の群(8群)、魚介類の群(10群)、肉・卵の群(11群)であったが、 TD_{inf} では砂糖・菓子の群(3群)、6群が高かった。摂取量への寄与は、全年齢層平均では8群と嗜好飲料の群(9群)が大きく、幼児では6群、雑穀・芋の群(2群)、乳の群(12群)が大きく、パターンが異なった。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりのアンチモン摂取量は、 $0.057 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 及び $0.029 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ であった。両

者の比は1.99となり体重当たりの全食品摂取量の比である1.77を上回った。幼児は体重当たりの6群の摂取量が全年齢層平均の2.8倍であり、さらに TD_{inf} の6群試料のアンチモン濃度が高かったことから摂取量が大きくなるが、他の群では大きな差がなかったことから、全食品を通じての体重当たりのアンチモン摂取量には大きな違いが現れなかったと考えられる。

バリウム

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のバリウム濃度比は、油脂の群(4群)で TD_{inf} が TD_{ave} の9.3倍、嗜好飲料の群(9群)で TD_{inf} が TD_{ave} の0.14倍となった。これらの食品群のバリウム濃度は非常に低く、摂取量への寄与は極めて小さいと考えられた。バリウム濃度の高い食品群は砂糖・菓子の群(3群)、豆の群(5群)、有色野菜の群(7群)、その他の野菜・漬物・きのこ・海藻の群(8群)であり、摂取量への寄与は、幼児では雑穀・芋の群(2群)、7群、8群が大きく、全年齢層平均では8群が大きかった。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりのバリウム摂取量は、 $19.9 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 及び $13.9 \mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ であった。両者の比は1.43となり体重当たりの全食品摂取量の比である1.77をやや下回った。

鉛

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料の鉛濃度の比は、多くの群で2倍以上あるいは0.5倍以下となったが、これらの食品群の鉛濃度は、最も高かったその他の野菜・漬物・きのこ・海藻の群(8群)の鉛濃度の10分の1以下であり、摂取量へ寄与は小さいと考えられた。TD_{inf} 及び TD_{ave} の8群試料濃度はほぼ等しかった。鉛摂取量に対する寄与も8群が最も大きくなり一致した。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりの鉛摂取量は、0.464 µg/kg bw/day 及び 0.311 µg/kg bw/day であった。両者の比は1.49となり体重当たりの全食品摂取量の比である1.77をやや下回った。

ウラン

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のウラン濃度比は、米の群(1群)及び果実の群(6群)で2倍以上、嗜好飲料の群(9群)及び調味料の群(13群)で0.5倍以下となった。これらの食品群のウラン濃度は最も高かったその他の野菜・漬物・きのこ・海藻の群(8群)のウラン濃度の10分の1以下であり、摂取量への寄与は極めて小さいと考えられた。TD_{inf} 及び TD_{ave} の8群濃度はほぼ等しかった。他にウラン濃度の高い群は魚介類の群(10群)で、TD_{inf} 及び TD_{ave} は同程度であった。ウラン摂取量に対する寄与は8群が最も大きかった。推定された幼児及び全年齢層平

均の体重当たりのウラン摂取量は、0.053 µg/kg bw/day 及び 0.035 µg/kg bw/day であった。両者の比は1.49となり体重当たりの全食品摂取量の比である1.77をやや下回った。

バナジウム

TD_{inf} 及び TD_{ave} の各群試料のバナジウム濃度の比は、米の群(1群)、果実の群(6群)、肉の群(11群)、乳の群(12群)で2倍以上、嗜好飲料の群(9群)で0.5倍以下となった。これらの食品群のバナジウム濃度は最も高かったその他の野菜・漬物・きのこ・海藻の群(8群)のバナジウム濃度の10分の1以下であり、摂取量への寄与は極めて小さいと考えられた。TD_{inf} 及び TD_{ave} の8群試料のバナジウム濃度は、TD_{inf} の方がやや低かった。バナジウム摂取量に対する寄与は8群が最も大きかった。推定された幼児及び全年齢層平均の体重当たりのバナジウム摂取量は、1.30 µg/kg bw/day 及び 1.14 µg/kg bw/day であった。両者の比は1.14となり体重当たりの全食品摂取量の比である1.77を大きく下回った。主たる摂取源である8群の濃度が、TD_{inf} において低かったためと考えられる。

I-D. 考察

体重当たりのダイオキシン類摂取量の幼児と全年齢層平均の比は、主要摂取源である10群の体重当たりの摂

取量に近い値となった。15種の元素類中、幼児における体重当たり摂取量の全年齢層平均に対する比が、体重当たりの全食品摂取量の比である1.77の±25%の範囲(1.33~2.21)外となったのは、アルミニウムとスズとバナジウムであった。1.77の±25%の範囲(1.33~2.21)内となった他の元素類では、1.77を下回るものが大部分で、1.77以上となったのはアンチモンのみであった。

前述のように、 TD_{inf} 及び TD_{ave} ともに8群のアルミニウム濃度は他の食品群に比べ50倍以上高く、アルミニウム濃度が顕著に高い食品が8群に含まれていたと考えられる。 TD_{ave} の8群のアルミニウム濃度が TD_{inf} の2倍となったことから、 TD_{ave} には、特にアルミニウム濃度の高い食品がより高い割合で含まれていたと考えられる。8群試料の全重量に対する割合が、 TD_{ave} において TD_{inf} よりも大きい食品は、その他の淡色野菜と漬物であった。漬物は食用色素のような添加物を使用すること、金属容器で製造・保存・輸送されることが考えられ、両試料に共通して含まれたダイコンの漬物のアルミニウム濃度が高かったことが推測された。

スズは TD_{inf} の11群試料の濃度が高く、 TD_{ave} の11群試料の4倍となった。 TD_{inf} 及び TD_{ave} の11群試料調製

に用いた食品は全て共通しており、濃度の差は11群試料の全量に特定の食品が占める割合の違いに起因すると考えられた。11群試料に含まれる食品中、幼児における摂取割合が前年齢層平均に比べ顕著に大きい食品は、ハム、ソーセージ類であり、このような加工肉の製造の際に金属が食品を汚染した可能性がある。しかし、ハム、ソーセージ類が11群試料の全量に占める割合は、幼児で18.4%、全年齢層平均で11.2%であり、4倍の濃度差を説明することは困難であり、材料とした食品中のスズの不均一な分布、あるいは調製したMB試料中の分布の不均一さも原因となっている可能性がある。

バナジウムはアルミニウムと同様に、 TD_{inf} 及び TD_{ave} ともに8群試料の濃度が他の食品群濃度の50倍以上高かった。8群試料では、 TD_{inf} に比べ TD_{ave} の濃度が35%程度高かった。アルミニウムの場合と同様に、バナジウム濃度の高い食品が8群試料に含まれていたと考えられる。

TD_{ave} 濃度に基づく幼児における摂取量の推定

前項で示したように、幼児におけるダイオキシン類の摂取量は、 TD_{ave} の分析結果から推定した全年齢層平均摂取量に、体重当たりの10群摂取量の比である1.27を乗じた値と同程度であった。

アルミニウム、スズ、バナジウムを除いた元素類では、体重当たりの食品摂取量の幼児と全年齢層平均の比 1.77 と、体重当たりの有害物質摂取量の幼児と全年齢層平均の比との差は 25% 以下であった。このことから、食品摂取量の全年齢層平均に基づいて調製した TD_{ave} の分析結果に基づき推定した全年齢層平均摂取量に、体重当たり食品摂取量の比である 1.77 を乗じることにより、幼児の体重当たりの元素類摂取量のおおよそを推定することが可能と考えられた。また、 TD_{ave} の各群試料の濃度に幼児の食品摂取量を乗じれば、幼児における元素類の摂取量をさらに正確に求めることが可能と考えられた。

TD_{inf} の分析結果から推定した幼児における各元素類の摂取量と、 TD_{ave} により推定した全年齢層平均の各元素類摂取量に、体重当たりの全食品摂取量の比である 1.77 を乗じて推定した値(TD_{ave} からの推定値 1)及び TD_{ave} の各群試料の濃度に幼児の食品摂取量を乗じて推定した値(TD_{ave} からの推定値 2)を比較した結果、 TD_{ave} からの推定値 1 が $\pm 25\%$ の範囲外となったのは、アルミニウム、スズ、バナジウムであり、 TD_{ave} からの推定値 2 が $\pm 25\%$ の範囲外となったのはアルミニウムとスズであった。この結果により、全年齢層平均の食品摂取量に基づき

調製した TD 試料の各群の摂取量に、全年齢層平均の体重当たりの食品摂取量に対する各年齢層の体重当たり食品摂取量の比を乗じることにより、各年齢層の摂取量を推定することが可能と考えられた。一方、アルミニウム、スズ、バナジウムの場合のように、摂取量推定の対象となる物質の濃度が極端に高い食品が TD 試料に含まれた場合には、TD 試料の全量に対する特定の食品が占める僅かな割合の違い、あるいは不均一性が、摂取量推定値に大きく影響すると考えられる。このような場合には、全年齢層平均試料の分析結果に基づき、幼児における摂取量を推定するのは困難であった。

本研究結果は、できるだけ同一の食材を使用して調製した 1 組の TD_{inf} 及び TD_{ave} から推定した摂取量の比較であるが、全般的に TD_{ave} から推定した幼児における摂取量推定値が、 TD_{in} の分析結果から推定した値よりも大きくなる理由等、明らかでない点が多くある。全年齢層平均の試料から各年齢層の摂取量を推定することができれば、特定の年齢グループ毎に試料調製をせずとも、摂取量を推定できることになり有用と考えられるので、今後も研究を継続する予定である。

II. 性別食品摂取量の算出

II-B. 研究方法

平成 20-22 年に行われた国民健康・

栄養調査結果の、食品小分類毎の一日の摂取量の平均値を求めた。全年齢、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)、19-34(成人 1)、35-64 歳(成人 2)、65 歳以上(高齢者)の年齢区分毎に男性と女性別に平均値を求めた。各年齢区分の男性及び女性の平均体重は、国民健康・栄養調査の身体・生活習慣データ中の体重を年齢区分毎に平均した値とした。

II-C.D 研究結果及び考察

体重当たりの食品摂取量は、男女共

に 1-3 歳の幼児で最も大きく、成長と共に小さくなり、高齢者でやや増加した。体重当たりの食品摂取量を男女で比較すると、幼時 2 と学童期では男性の体重当たり食品摂取量が女性を上回ったが、他の年齢区分では女性の方が男性よりも大きくなった。特に成年期では、女性の体重当たり食品摂取量は男性よりも 17%程度多かった。妊娠可能年齢の女性は男性よりも体重当たり食品摂取量が多いことから、ADI あるいは TDI と有害物質摂取量を比較する際には、考慮が必要と考えられた。

2-2. 有害化学物質摂取量推定に不可欠な分析法開発

A. 研究目的

食品に含まれる特定の有害物質を摂取することによる健康危害リスクへの影響が評価され、その評価結果に基づき日常的に食事の安全性を確保することが健康の維持に不可欠である。ヒ素は食品に含まれ、日常的に摂取される可能性の高い有害物質の一つに挙げられる。食品となる生物を含む環境中には、価数が 3 価または 5 価の無機ヒ素、メチル基を官能基として有する複数のヒ素化合物やアルセノ糖のような有機ヒ素化合物の存在が知られて

いる。化学形態によってヒ素の生体内動態や毒性は異なり、一般に有機ヒ素化合物はヒトに対して無毒または低毒性であるが、無機ヒ素は有毒であると考えられている。したがって、どのような形態のヒ素化合物がどのような食品にどのくらいの量含まれ、日常的な食事を通じて摂取されているかを知ることは重要であるといえる。

本研究班渡邊分担課題の成果として、日本人は総ヒ素(無機ヒ素と有機ヒ素化合物の合計量)の約 80%を海水産物から摂取することが示唆され

ている。また米は、ヒ素の主要摂取源となる農産品である。しかし、それらの食品群から摂取される総ヒ素に占める無機ヒ素と有機ヒ素化合物の割合は不明である。上記の通り、ヒ素を摂取することによるヒトの健康危害リスクを精密に評価するためには、総ヒ素摂取量に加え、化学形態別にヒ素の摂取量を知ることが重要である。ヒ素の摂取量は分析により試料の濃度が明らかになって初めて推定可能になる。これまでも総ヒ素摂取量が推定されてきたが、これは無機ヒ素と有機ヒ素化合物の形態を区別せずに分析することが比較的容易であることが理由である。

本研究では、化学形態別のヒ素化合物摂取量推定を可能とする、科学的に裏付けされた分析結果を得るための分析法の開発を進めている。そのための研究として、今年度は下記の2つの検討を実施した。

検討 1) 摂取量推定に使用可能なヒ素の化学形態別分析法の開発

昨年度までに、化学形態別にヒ素化合物を測定するための、基礎的な測定法の検討を終了した。本年度は、化学形態の異なるヒ素化合物を試料から抽出する方法を検討し、昨年度に開発した HPLC と ICP-MS を用いた測定法と組み合わせ、ヒ素の形態別分析法(HPLC-ICP-MS 法)を開発し

た。また、TD 試料のモデル試料を用い、開発した分析法の性能を評価した。

検討 2) LC-MS/MS を用いた有機ヒ素化合物の化学形態別分析法の開発

検討 1)で開発した HPLC-ICP-MS 法の検出器に用いている ICP-MS では、ヒ素の質量数 75 を形態の異なるヒ素化合物の全てに共通して観測するため、検出時には各ヒ素化合物が十分に分離していることが重要である。しかし、複数の有機ヒ素化合物及び3価と5価の無機ヒ素の全てを互いの測定に影響のないよう、完全に分離することは難しい。また、HPLC-ICP-MS法では、各ヒ素化合物の分離に高濃度のイオンペア試薬を用いており、そのことを原因とする機器の汚染や感度低下には細心の注意を払わなければならない。

本検討では、イオンペア試薬を用いず、各ヒ素化合物の完全分離を必要としない分析法の開発を目的として、LC-MS/MS を用いる方法を検討した。

B. 研究方法

検討 1) 摂取量推定に使用可能なヒ素の化学形態別分析法の開発 分析対象化合物

標準品が入手可能な下記の計 8 種類とした。

・無機ヒ素①亜ヒ酸:As(Ⅲ)、②ヒ酸:
As(V)

・有機ヒ素③モノメチルアルソン酸
(MMA)、④ジメチルアルシン酸(カ
コジル酸) (DMA)、⑤トリメチルア
ルシンオキシド(TMAO)、⑥アルセ
ノベタイン(AsB)、⑦アルセノコリ
ン(AsC)、⑧テトラメチルアルソニ
ウム(TeMA)

試料

昨年度本研究班において開発した、
摂取量推定を目的とした分析に使用
する分析法の性能を評価するためモ
デル試料 Sample for Evaluation of
Methods Performance(以下、SEMP)を
用いた。

試薬等

硝酸 1.42(超微量分析用)、25%テト
ラメチルアンモニウムヒドロキシド
(以下、TMAH)(精密分析用)、1-ブタ
ンスルホン酸ナトリウム、マロン酸
(特級)、メタノール(液体クロマトグ
ラフィー用)、メチルオレンジ(特級)、
25%アンモニア水(有害金属測定用)
は和光純薬社製のものを用いた。

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

標準品：下記の 8 種類を使用した。

亜ヒ酸 As(Ⅲ)：ひ素標準液(As 100)
(関東化学社製)

ヒ酸 As(V)：ひ酸 [As(V)] 水溶液

(NMIJ CRM 7912-a)

アルセノベタイン水溶液 (NMIJ
CRM 7901-a)

ジメチルアルシン酸水溶液 (NMIJ
CRM 7913-a)

モノメチルアルソン酸、アルセノコ
リンブロマイド、トリメチルアルシ
ンオキシド、ヨウ化テトラメチルア
ルソニウム(トリケミカル研究所製)

標準原液：メチルアルソン酸、アル
セノコリン、トリメチルアルシンオ
キシド、テトラメチルアルソン酸に
ついては各 1000 mg/L になるように、
それぞれ下記のとおり標準原液を調
製した。

・メチルアルソン酸標準品 50 mg を
正確に量りとり、水で 50 mL に定容
した。

・アルセノコリンブロマイド標準品
74.2 mg を正確に量りとり、水で 50
mL に定容した。

・トリメチルアルシンオキシド標準
品 50.0 mg を正確に量りとり、水で
50 mL に定容した。

・ヨウ化テトラメチルアルソニウム
標準品 97.0 mg を正確に量りとり、
水で 50 mL に定容した。

上記以外のヒ素化合物については、
購入した水溶液を標準原液として用
いた。

0.15 mol/L 硝酸溶液：硝酸 4.8 mL を
量りとり、水で 500 mL に定容した。

メチルオレンジ溶液：メチルオレンジ 0.1 g を量りとり、水で 100 mL に定容後、孔径 0.45 μm の PTFE フィルター(メルクミリポア社製)でろ過した。

5% アンモニア水:25%アンモニア水 10 mL を水で 50 mL に定容した。

HPLC 用移動相： 25% TMAH 0.3645 g、1-ブタンスルホン酸ナトリウム 1.922 g、マロン酸 0.416 g、メタノール 0.5 mL を量りとり、水を加え、5% アンモニア水で pH3.0 に調整した後、1 L に定容した。なお、この溶液は用時調製した。

分析機器

HPLC: 島津製作所社製 Prominence を用いた。

ICP-MS：サーモフィッシャーサイエンティフィック社製 X-Series2 を用いた。

HPLC-ICP-MS 測定条件

HPLC 条件

カラム：L-column2 (内径 4.6 mm 長さ 25 cm 粒子径 3 μm) (化学物質研究評価機構社製)

移動相：0.05 (v/v%) メタノール、12 mM 1-ブタンスルホン酸ナトリウム、4 mM マロン酸、1 mM TMAH 溶液 (pH3.0)

流速：0.75 mL/min

カラム温度：25°C

オートサンプラー温度：4°C

注入量：20 μL

測定時間：15 min

ICP-MS 条件

測定モード：CCT モード

(コリジョンモード)

コリジョンガス：He

測定ポイント時間：100 ms

測定質量数：75

その他の条件は、機器の自動チューニングプログラムによって設定した。

測定溶液の調製

試料 2.0 g を量り取り、0.15 mol/L 硝酸溶液 5 mL を加え、100°C で 2 時間静置した。なお、30 分おきによく振り混ぜた。2600 g で 10 分間遠心分離後、水層を 20 mL メスフラスコに移した。残渣に水 5 mL を加え、手でよく振とうした後、同様に遠心分離後、水層を上記のメスフラスコに合わせた。同様の操作を計 2 回行った。メスフラスコにメチルオレンジ溶液を 100 μL 加え、5%アンモニア水で約 pH3.0 (溶液の色が薄い赤色～オレンジ)に調整した後、20 mL に定容した。この溶液を孔径 0.45 μm の PTFE フィルターでろ過し、測定溶液とした。

検量線の作成

各標準原液を適宜量りとり、0.15 mol/L 硝酸溶液を 5 mL 加えた。メチルオレンジ溶液を 100 μL 加え、5% アンモニア水で約 pH3.0(溶液の色が

薄い赤色～オレンジ)に調整した後、定容した溶液を孔径 0.45 μm の PTFE フィルターでろ過し、検量線用測定溶液とした。各検量線用溶液 20 μL を HPLC-ICP-MS に注入し、得られたピーク面積値の濃度に対する一次回帰式を最小二乗法により求め、検量線を作成した。

測定及び分析対象化合物濃度の算出

測定溶液を HPLC-ICP-MS に注入し、測定値を得た。次いで、作成した検量線の各変数を用いて下式にしたがい、測定溶液中の各分析対象化合物濃度を逆推定した。

測定溶液中の各分析対象化合物濃度 (mg/kg)

$$= \{(\text{Signal}_{\text{analyte}} - \text{intercept}) / \text{slope}\} / 100$$

Signal_{analyte}: 各分析対象化合物の測定値

Intercept: 検量線の切片

Slope: 検量線の傾き

分析法の性能を評価するための実験計画

分析法の性能を評価し、その性能から分析法の妥当性を判断するために、SEMP の各分析対象化合物濃度を考慮して調製した添加試料を 5 併行で分析し、分析法の真度と併行精度を推定した。

検討 2) LC-MS/MS を用いた有機ヒ素化合物の化学形態別分析法の開発 分析対象化合物

下記の計 6 種類の有機ヒ素化合物を分析対象とした。

有機ヒ素①MMA、②DMA、③TMAO、④AsB、⑤AsC、⑥TeMA

試薬等

硝酸(比重:1.38、濃度:60～61%)は関東化学社製を用いた。硝酸アンモニウムは林純薬社製を用いた。

水 : ADVANTEC 社製装置 (ULTRAPURE WATER SYSTEM)により製造した超純水(比抵抗 > 18.2MΩ・cm、TOC < 1 ppb)を用いた。

標準品 : 下記の 6 種類を使用した。

MMA、DMA、AsB、AsC は、和光純薬工業社製、TMAO、TeMA はトリケミカル研究所社製を用いた。

HPLC 用移動相 : 水 600mL に硝酸 0.50g, 硝酸アンモニウム 0.48g を溶解させ、水で 1L とした。

分析機器

HPLC : アジレントテクノロジー社製 1100 シリーズを用いた。

LC-MS/MS : ABSCIEX 社製 API4000 を用いた。

LC-MS/MS 測定条件

HPLC 条件

カラム : NN-414 (内径 2 mm 長さ 15 cm) (Shodex 社製)

移動相 : 5mM 硝酸・6mM 硝酸アンモ