

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

総合研究報告書

食品の塩素化ダイオキシン類、PCB 等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

研究代表者 穂山 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

研究要旨

本研究では、1) 食品からの塩素化ダイオキシン類(以下、ダイオキシン類)の摂取量推定、2) 食品からのポリ塩化ビフェニル(PCBs)の摂取量推定、及び3) GC-MS/MSによる魚中のダイオキシン類分析の基礎検討、を実施した。

1) 国民平均のダイオキシン類摂取量を推定するため、全国7地区8機関で調製したトータルダイエット(TD)試料を用いた摂取量調査を毎年実施した。平成28年度から平成30年度の全国平均摂取量は0.51～0.65 pg TEQ/kg bw/dayと推定された。日本のダイオキシン類の耐容一日摂取量(TDI)に占める割合は13～16%であった。特に10群からの摂取量が大きく、全体の9割程度を占めた。ダイオキシン類摂取量はここ20年間で緩やかな減少傾向を示しており、平成30年度のダイオキシン類摂取量の平均値は、平成10年度の平均値の29%程度であった。

2) 国民平均のPCBs摂取量を推定するため、全国10地域で調製したTD試料を用いた摂取量調査を毎年実施した。10群(魚介類)と11群(肉類、卵類)についてTD試料を調製し、PCBsの全異性体分析を実施した。平成28年度から平成30年度の総PCBsの全国平均摂取量は5.0～7.3 ng/kg bw/dayと推定された。これらの値は日本の暫定TDIの0.15%以下であった。また、推定された摂取量は、より厳しいWHOの国際簡潔評価文書のTDIと比較しても低い値であったが、TDIの25～36%となった。さらに、リスク評価の為の情報不足している非ダイオキシン様PCBs(NDL-PCBs)の摂取量についても推定した。NDL-PCBsの全国平均摂取量は4.6～6.7 ng/kg bw/day、NDL-PCBsの指標異性体として用いられる6異性体の全国平均摂取量は1.6～2.4 ng/kg bw/dayと推定された。

3) GC-MS/MSを用いた魚中のダイオキシン類分析を検討した。認証標準試料を分析した結果、定量下限値以上であったダイオキシン類異性体については全て認証値又は参考値の平均値±2SDの範囲内であった。次に、ダイオキシン類濃度が比較的高い魚試料(14試料)をGC-MS/MS並びに高分解能GC/MSによるダイオキシン類分析を行い、ダイオキシン類異性体の実測濃度を比較した。GC-MS/MS分析で定量下限値以上となった殆どのダイオキシン類異性体の実測濃度は、高分解能GC/MS分析の実測濃度の±20%以内に収まり、両者の濃度は良く一致していた。PCDD/PCDFs及びCo-PCBsの毒性等量濃度についても、両者で良く一致していた。GC-MS/MSによるダイオキシン類の分析は高分解能GC/MSと比較すると装置の感度は劣るものの、ダイオキシン類濃度が比較的高い魚試料については高分解能GC/MSと良く一致した分析値が得られた。

1) トータルダイエット試料の分析による塩素化ダイオキシン類摂取量推定

A. 研究目的

人が暴露する塩素化ダイオキシン類(以下、ダイオキシン類)の殆どは食品からの摂取による。ダイオキシン類による健康影響のリスク管理のためには、食品から人がどの程度のダイオキシン類を摂取しているか把握することが重要である。推定したダイオキシン類摂取量は耐容一日摂取量(TDI)等と比較してリスク評価を行い、推定した摂取量が TDI に近ければ健康への影響を考慮すべきと評価される。また、ダイオキシン類摂取量を継続して調査する事で、規制等の行政施策の必要性や、さらには施策の効果の検証に活用が期待できる。我々は国民平均のダイオキシン類摂取量の経年変化を把握するため、トータルダイエット(TD)試料を用いたダイオキシン類摂取量の調査を平成 9 年から実施してきた。引き続き国民平均のダイオキシン類摂取量を推定し、その動向を把握するため、平成 28 年度から平成 30 年度も日本人の平均的な食品摂取に合った TD 試料を分析し、ダイオキシン類摂取量を推定した。

B. 研究方法

1. 試料

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 23 年～平成 25 年の国民健康・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。食品は 14 群に大別して試料を調製した。各機関はそれぞれ約 120 品目の食品を購入し、地域別食品摂取量に基づいて、それらの食品を計量し、食品によっては調理した後、食品群ごとに混合均一化したものを試料とした。作製した TD 試料は、分析に供すまで-20℃で保存した。

14 食品群の内訳は、次のとおりである。

- 1 群: 米、米加工品
- 2 群: 米以外の穀類、種実類、いも類
- 3 群: 砂糖類、菓子類
- 4 群: 油脂類
- 5 群: 豆類、豆加工品
- 6 群: 果実、果汁
- 7 群: 緑黄色野菜
- 8 群: 他の野菜類、キノコ類、海藻類
- 9 群: 酒類、嗜好飲料
- 10 群: 魚介類
- 11 群: 肉類、卵類
- 12 群: 乳、乳製品
- 13 群: 調味料
- 14 群: 飲料水

1～9 群、及び 12～14 群は、各機関で 1 セットの試料を調製した。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 セットの試料調製では、魚種、産地、メーカー等が異なる食品を含めた。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。

2. 分析対象項目及び目標とした検出下限値

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。ダイオキシン類各異性体の目標とした検出下限値(LOD)は以下のとおりである。

	検出下限値		
	1-3,5-13 群	4 群	14 群
PCDDs	(pg/g)	(pg/g)	(pg/L)
2,3,7,8-TCDD	0.01	0.05	0.1
1,2,3,7,8-PeCDD	0.01	0.05	0.1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.02	0.1	0.2
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.02	0.1	0.2

1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.02	0.1	0.2
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.02	0.1	0.2
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	0.05	0.2	0.5

PCDFs

2,3,7,8-TCDF	0.01	0.05	0.1
1,2,3,7,8-PeCDF	0.01	0.05	0.1
2,3,4,7,8-PeCDF	0.01	0.05	0.1
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.02	0.1	0.2
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.02	0.1	0.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.02	0.1	0.2
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.02	0.1	0.2
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.02	0.1	0.2
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.02	0.1	0.2
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	0.05	0.2	0.5

Co-PCBs

3,3',4,4'-TCB(#77)	0.1	0.5	1
3,4,4',5-TCB(#81)	0.1	0.5	1
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.1	0.5	1
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.1	0.5	1
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	1	5	10
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	1	5	10
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	1	5	10
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	1	5	10
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	1	5	10
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	1	5	10
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	1	5	10
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	1	5	10

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. ダイオキシン類摂取量の推定

調査結果は、一日摂取量を体重あたりの毒性等量 (pg TEQ/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 LOD 未満の異性体濃度をゼロとして計算 (以下、ND=0 と略す) した。Global

Environment Monitoring System (GEMS) では、分析値が LOD 未満となった場合は ND=LOD/2 として摂取量を推定する方法も示されているが、これは ND となった試料が全分析試料の 60%以下であることが適用の条件になっている。10 群と 11 群以外では異性体の検出率は極めて低くなる。このようなことから、ND=LOD/2 により推定したダイオキシン類摂取量の信頼性は低く、摂取量を著しく過大評価する可能性が高いため、ND=0 として摂取量を推定した結果のみを示した。

C. 研究結果及び考察

国民平均のダイオキシン類摂取量を推定するため、全国 7 地区の 8 機関でトータルダイエツト試料を調製し、ダイオキシン類を分析した。平成 28 年度、平成 29 年度、及び平成 30 年度のダイオキシン類一日摂取量の平均値はそれぞれ 0.54、0.65、及び 0.51 pg TEQ/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 pg TEQ/kg bw/day の 13~16%に相当した。また調査した 3 年間で最大となった摂取量は、1.77 pgTEQ/kg bw/day (平成 29 年度の最大値) であり、TDI の約 44%であった。ダイオキシン類摂取量に占める Co-PCBs の割合は 67%程度であり、3 年間を通してほぼ一定であった。ダイオキシン類摂取量に占める割合が高い食品群は、10 群 (魚介類) と 11 群 (肉類・卵類) であり、これら 2 つの群で全体のほとんどを占めた。特に 10 群からの摂取量は大きく、全体の 9 割程度を占めていた。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。

ダイオキシン類摂取量の平均値は、平成 10 年度以降、若干の増減はあるものの緩やかな減少傾向を示していた。平成 30 年度の平均値は 0.51 pg TEQ/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。また、調査開始時の平成 10 年度の摂取量は 1.75 pg TEQ/kg bw/day であり、この値と比較すると

平成 30 年度の平均値は 29%程度であった。ダイオキシン類摂取量の減少には、平成 18 年度までは 10 群と 11 群からの摂取量の減少が寄与していたが、平成 18 年度以降は、主として 10 群からの摂取量の減少が寄与していた。

ダイオキシン類摂取量は TD 試料中のダイオキシン類濃度と各食品群の食品摂取量を乗じて求められる。ダイオキシン類摂取量が減少した要因について考察するため、ダイオキシン類摂取量に占める割合が大きい 10 群及び 11 群の試料中のダイオキシン類濃度の経年変化を調べた。10 群及び 11 群のダイオキシン類濃度の平均値は、ダイオキシン類摂取量とよく似た減少傾向を示していた。日本では Co-PCBs を含む PCB 製品の使用が 1972 年に禁止されている。また、PCDD/PCDFs を不純物として含むことが知られている農薬(クロロニトロフェン及びペンタクロロフェノール)の農薬登録が 1970 年代に失効している。さらには、平成 11 年に制定されたダイオキシン類対策特別措置法により、焼却施設等からのダイオキシン類の排出が大幅に抑制されている。10 群及び 11 群のダイオキシン類濃度の低下についてはこれらの行政施策の効果が窺われた。また、各年の調査で用いた 10 群と 11 群の食品摂取量の経年変化をみると、11 群の食品摂取量は調査開始時の平成 10 年度からほぼ横ばいで推移しているが、10 群の食品摂取量は近年ゆるやかな減少を示しており、平成 30 年度の 10 群の食品摂取量は平成 10 年度と比較して約 75%に減少していた。食生活の多様化に伴う魚介類摂取量の減少も部分的にダイオキシン類摂取量の減少に寄与していると考えられた。

本研究の調査結果と、過去 10 年間に主な諸外国で実施されたダイオキシン類摂取量調査の結果を比較した。ダイオキシン類摂取量の推定には、分析法の LOD、LOD の取り扱い、また対象とした年齢層などの違いが影響するため、各国のダイオキシン類摂取量を単純に比較することは難しい。これらの点に留意する必要があるが、日本のダイオキシン類摂取量(平成 28 年度

～平成 30 年度)は諸外国で報告されているダイオキシン類摂取量の範囲内であり、特に高いことはなかった。

D. 結論

全国 7 地区 8 機関で調製した TD 試料によるダイオキシン類の摂取量調査を実施した結果、平成 28 年度から平成 30 年度の国民平均の一日摂取量は 0.51～0.65 pg TEQ/kg bw/day と推定された。ダイオキシン摂取量は行政施策の効果などもあり経年的な減少傾向が示唆されている。しかし、依然として TDI の 13～16%を占めており、この値は有機塩素系農薬等のその他の多くの有害化学物質と比較すると高い値である。今後もダイオキシン摂取量調査を継続し、ダイオキシン類摂取量の動向を注意深く観察していく必要がある。

E. 研究業績

1. 論文発表

- 1) 堤 智昭, 松田 りえ子: 食品からのダイオキシン類の摂取量推定 -厚生労働科学研究による調査結果(平成 25～27 年度)の紹介-, 食品衛生研究, 2017:67:25-39.
- 2) Tsutsumi T, Takatsuki S, Teshima R, Matsuda R, Watanabe T, Akiyama H: Dioxin concentrations in dietary supplements containing animal oil on the Japanese market between 2007 and 2014, Chemosphere, 2018: 191: 514-519.
- 3) Tsutsumi T, Matsuda R, Yanagi T, Iizuka S, Isagawa S, Takatsuki S, Watanabe T, Teshima R, Akiyama H: Dietary intake of dioxins in Japan in 2016 with time trends since 1998, Food Additives & Contaminants: Part A, 2018:35:1553-1564.

2. 学会発表

- 1) Tsutsumi T, Adachi R, Matsuda R, Akiyama H, Watanabe T: Estimation of dietary intake of polycyclic aromatic hydrocarbons by duplicate diet method in Japan. 36th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (2016.8)
- 2) 堤 智昭, 足立利華, 松田りえ子, 穠山浩, 渡邊 敬浩: 加熱調理方法が食品中の多環芳香族炭化水素濃度に及ぼす影響, 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会 (2016.11)
- 3) 高附 巧, 植草 義徳, 前田 朋美, 渡邊 敬浩, 穠山 浩, 堤 智昭: 市販ベビーフード中のダイオキシン類実態調査, 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会 (2016.11)
- 4) Imamura M, Takatsuki S, Tsutsumi T, Maeda T, Akiyama H: Estimation dioxin intakes from commercial baby foods in Japan. 38th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (2018.8)
- 5) 今村正隆, 堤 智昭, 高附 巧, 前田 朋美, 伊佐川聡, 柳 俊彦, 飯塚誠一郎, 穠山浩: マーケットバスケット方式によるダイオキシン類の一日摂取量調査, 第 55 回全国衛生化学技術協議会年会 (2018.11).

2) トータルダイエット試料の分析による PCBs 摂取量推定

A. 研究目的

我が国では、通知「食品中に残留する PCB の規制について」の中で、ポリ塩化ビフェニル (PCBs) の TDI が暫定値として示されている。TD 試料を用いた PCBs の摂取量調査は、1977 年から毎年実施されており、国民平均の PCBs 摂取量とその経年推移に関する知見が得られている。最新の国民平均の PCBs 摂取量を推定し、その動向を把握するため、平成 28 年度から平成 30 年度においても、日本人の平均的な食品摂

取に従った TD 試料を分析し、PCBs の一日摂取量を推定した。

また PCBs はその毒性学的性質からダイオキシン様 PCBs (Co-PCBs と呼ばれる) と非ダイオキシン様 PCBs (NDL-PCBs) の二つに分類される。そのため、欧州では、Co-PCBs と NDL-PCBs に分けてリスク管理を行っている。Co-PCBs の 12 異性体については PCDD/PCDFs と共にダイオキシン類に分類されることが一般であり、我が国でも Co-PCBs を含めてダイオキシン類の TDI が定まっている。一方、NDL-PCBs の TDI は定まっておらず、JECFA 等でリスク評価のための情報を収集することが推奨されている。本研究ではリスク評価に資する情報を提供するため、2016 年より NDL-PCBs の摂取量についても推定した。また、NDL-PCBs の指標異性体として欧州等で使用されている 6 種の PCBs (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) (以下、6PCBs) の合計値についてもあわせて摂取量を推定した。

B. 研究方法

1. 試料

TD 試料は、全国 10 地域の衛生研究所等で調製した。厚生労働省が実施した平成 23 年～平成 25 年の国民健康・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。各地の小売店から食品を購入し、地域別食品摂取量に基づいて、それらの食品を計量し、食品によっては調理した後、食品群ごとに混合均一化したものを試料とした。過去の研究から PCBs 摂取量に占める割合の高い食品群は、10 群 (魚介類) と 11 群 (肉類、卵類) であることが判明しているため、これら二つの食品群を分析対象とした。

2. 分析方法

試験溶液の調製

均一化した試料 20 g をビーカーに量りとり、クリーンアップスパイクを加えた後、1 mol/L 水酸化カリウムエタノール溶液を加え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、水及びヘキサンを加え、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漏斗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で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、溶媒を留去し少量のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルをヘキサンで洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサンで溶出した。溶出液は溶媒を留去し、少量のヘキサンに溶解した。アルミナカラムに試験溶液を注入し、ヘキサンで洗浄後、20% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサンで溶出した。溶媒を留去し、シリンジスパイクを加え、GC/MS 試験溶液とした。

測定条件

高分解能 GC/MS による測定は、以下の条件で行った。

カラム: HT8-PCB (関東化学(株)社製) 内径

0.25 mm × 60 m

注入方式: スプリットレス

注入口温度: 280°C

注入量: 2.0 µL

昇温条件: 100°C (1 分保持) - 20°C/分 - 180°C - 2°C/分 - 260°C - 5°C/分 - 300°C (22 分保持)

キャリアーガス: ヘリウム (流速: 1.0 mL/分)

MS 導入部温度: 300°C

イオン源温度: 300°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 µA

加速電圧: ~10.0 kV

分解能: 10,000 以上

測定モード: SIM モード

3. 分析対象項目及び検出下限値

総 PCBs は、全 PCBs 異性体 (209 異性体) の合計値とした。

NDL-PCBs は Co-PCBs である 12 異性体以外の PCBs 異性体の合計値とした。なお、Co-PCBs に分類される PCB 105 は、NDL-PCBs である PCB 127 と GC カラムでのピークの分離が不十分であった。しかし、PCB 127 はカネクロール中での存在量が極めて微量であるため、実質上はゼロとみなせると考えられたため、本研究では PCB 105 のピークとして取り扱った。

6PCBs は PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180 の合計値とした。なお、PCB 52 は PCB 69 と GC カラムでのピークの分離が不十分であった。PCB 69 はカネクロール中での存在量が極めて微量であるため、実質上はゼロとみなせると考えられたため、本研究では PCB 52 のピークとして取り扱った。

各 PCBs 異性体の LOD は 0.014~0.95 pg/g であった。

4. PCBs 摂取量の推定

TD 試料における分析対象物の濃度に、各食品群の食品摂取量を乗じて PCBs 摂取量を推定した。TD 試料において LOD 未満の異性体濃度はゼロ (ND=0) として計算した。高分解能 GC/MS による PCBs 分析を実施することで、LOD を十分に低く設定できているため、仮に LOD 未満の濃度で極微量に含まれる PCBs 異性体が存在していても、推定される摂取量に与える影響はごく僅かであった。

C. 研究結果及び考察

国民平均の PCBs 摂取量を推定するため、全国 10 地域で TD 試料を調製し、PCBs を分析した。平成 28 年度、平成 29 年度、及び平成 30 年度の PCBs 摂取量の平均値は、それぞれ 7.1、

7.3、及び 5.0 ng/kg bw/day と推定された。10 群からの摂取量が合計値の 92～96%を占めていた。日本では PCBs に暫定 TDI (5 µg/kg bw/day) が示されている。これらの摂取量は暫定 TDI の僅か 0.15%以下であった。一見すると総 PCBs の摂取量は暫定 TDI と比較して十分に小さいと考えられるが、暫定 TDI は 1972 年に示されたものであり、その導出の根拠となった長期毒性研究は非常に古い時代のものである。より新しい毒性の知見を踏まえた TDI と比較することも必要と考えられる。2003 年に WHO で PCBs に関する国際簡潔評価文書 No.55 (CICAD : Concise International Chemical Assessment Document) が作成された。この中で PCBs の混合物について TDI として 0.02 µg /kg bw/day が提案されている。この TDI と比較すると総 PCBs 摂取量の全国平均値は 25～36%に相当した。この値はカドミウムなどの有害元素の摂取量の TDI に対する割合に近い。ただし、本評価文書の TDI の導出の根拠になった毒性研究では、人の健康への重要性が明確になっていない免疫毒性学的影響が毒性の指標となっている。また、PCBs に感受性の高いアカゲザルを使用していることもあり、過度の安全を見込んだ TDI となっている可能性に注意が必要である。また、平成 28 年度、平成 29 年度、及び平成 30 年度の NDL-PCBs の全国平均摂取量は、それぞれ 6.6、6.7、及び 4.6 ng/kg bw/day、NDL-PCBs の指標異性体として用いられる 6 異性体の全国平均摂取量は、それぞれ 2.3、2.4、及び 1.6 ng/kg bw/day と推定された。

1977 年以降の総 PCBs 摂取量の平均値の経年変化を見ると、総 PCBs 摂取量は 1990 年頃までは急激に減少しているが、それ以降の減少傾向は鈍化している。行政指導により 1972 年に PCBs 製品の製造・使用が中止となり、1973 年には PCBs は化審法により特定化学物質(現在の第一種特定化学物質)に指定された。1990 年頃までの急激な摂取量の低下はこれらの行政施策の効果が反映されているものと考えられる。平成

30 年度の総 PCBs 摂取量は調査開始以来、最も少ない摂取量を示した。調査開始時と比較すると、平成 30 年度の総 PCBs 摂取量は 1/13 程度であった。

本研究の調査結果と、主な諸外国で実施された PCBs 摂取量調査の結果を比較した。日本の総 PCBs 摂取量(平成 28 年度～平成 30 年度)は、主な諸外国で報告されている PCBs 摂取量の範囲内であり、特に高いことはなかった。また、NDL-PCBs の指標異性体として用いられる 6PCBs の摂取量については、日本の 6PCBs 摂取量(平成 28 年度～平成 30 年度)は諸外国で報告されている 6PCBs 摂取量よりも低い値であった。

D. 結論

全国 10 地区で調製した TD 試料による PCBs の摂取量調査を実施した結果、平成 28 年度から平成 30 年度の国民平均の一日摂取量は 5.0～7.3 ng/kg bw/day と推定された。これらの値は日本の暫定 TDI の僅か 0.15%以下であった。また、より厳しい WHO の国際簡潔評価文書の TDI と比較しても低い値であったが、TDI の 25%～36%に相当した。その他、平成 28 年度から平成 30 年度の NDL-PCBs の平均摂取量は 4.6～6.7 ng/kg bw/day、NDL-PCBs の指標異性体として用いられる 6 異性体の平均摂取量は 1.6～2.4 ng/kg bw/day と推定された。

E. 研究業績

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

3) GC-MS/MS を用いた魚中のダイオキシン類分析の基礎検討

A. 研究目的

食品に含まれるダイオキシン類は極めて微量であることから二重収束型の高分解能 GC/MS (以下、HRGC/MS) を用いた高感度分析が一般であり、食品中のダイオキシン類分析の暫定ガイドラインにもその使用が記載されている。しかし、HRGC/MS は大型で高価な装置であることから、汎用性が高いとは言い難い。GC-MS/MS は HRGC/MS と比較すると一般的に検出感度は劣るものの、小型で廉価であるため食品中の有害化学物質の分析に汎用されている。ヨーロッパでは食品にダイオキシン類の規制値が設けられており、最近では規制値への適合判定のための分析に HRGC/MS と共に、GC-MS/MS の使用が認められている。しかし、GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析に関する知見は極めて乏しい。特に魚はダイオキシン類濃度が他の食品と比べて比較的高いため、GC-MS/MS によるダイオキシン類分析が行えれば食品衛生上、有意義である。本研究では、GC-MS/MS を用いた魚を対象としたダイオキシン類分析の基礎検討として、GC-MS/MS 分析の LOD 及び定量下限値 (LOQ) の推定、認証標準試料の分析、並びに魚試料における HRGC/MS 分析値との比較を行った。

B. 研究方法

1. 試料

魚試料は関東地方の小売店で購入した。筋肉部をホモジナイザーで均一化し分析に供した。認証標準試料として、WMF-01 (キングサーモン切り身の凍結乾燥物) を (株) ウェリントンラボラトリー・ジャパンより購入した。

2. 分析方法

試験溶液の調製

均一化した試料 50 g (認証標準試料は 2~9

g) をビーカーに量りとり、クリーンアップスパイクを加えた後、2 mol/L 水酸化カリウム水溶液を加え室温で一晩放置した。このアルカリ分解液を分液ロートに移した後、メタノール、ヘキサンを加え振とう抽出した。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漏斗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で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、溶媒を留去し少量のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルをヘキサンで洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサンで溶出した。溶出液は溶媒を留去し、少量のヘキサンに溶解した。アルミナカラムに試験溶液を注入し、ヘキサンで洗浄後、2% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサンでモノオルト PCBs 分画を溶出した。次いで、60% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサンで PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。モノオルト PCBs 分画は溶媒を留去し、シリジンスパイクを添加し GC-MS/MS に供した。PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画は溶媒を留去した後、活性炭分散シリカゲルリバーカラムに注入し、25% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサンでカラムを洗浄後、カラムを反転させ、トルエンで PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリジンスパイク 20 μ L を添加し GC-MS/MS に供した。

GC-MS/MS 測定条件

① 2,3,7,8 - TCDD、1,2,3,7,8 - PeCDD、1,2,3,7,8 - PeCDF、1,2,3,4,7,8 - HxCDF、1,2,3,6,7,8 - HxCDF

カラム: DB-5ms UI (内径 0.25 mm \times 60 m、膜厚 0.25 μ m)

注入方式: スプリットレス

注入口温度: 250 $^{\circ}$ C

注入量: 3.0 μ L

昇温条件: 120°C(2分保持)-25°C/分-250°C(5分保持)-3°C/分-300°C(12分保持)

キャリアーガス: ヘリウム (流速: 1.2 mL/分)

②1,2,3,4,7,8-HxCDD、1,2,3,6,7,8-HxCDD、1,2,3,7,8,9-HxCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、OCDD、2,3,7,8-TCDF、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDF、2,3,4,6,7,8-HxCDF、1,2,3,4,6,7,8-HpCDF、1,2,3,4,7,8,9-HpCDF、OCDF

カラム: DB-17(内径 0.25 mm×60 m、膜厚 0.25 μ m)

注入方式: スプリットレス

注入口温度: 250°C

注入量: 3.0 μ L

昇温条件: 130°C(2分保持)-30°C/分-200°C-3°C/分-280°C(30分保持)

キャリアーガス: ヘリウム (流速: 1.5 mL/分)

③Co-PCBs

カラム: HT8-PCB(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式: スプリットレス

注入口温度: 260°C

注入量: 3.0 μ L

昇温条件: 130°C(1分保持)-20°C/分-200°C-1.5°C/分-230°C-5°C/分-240°C/分-8°C/分-300°C(10分保持)

キャリアーガス: ヘリウム (流速: 1.6 mL/分)

MS 導入部温度: 280°C

イオン源温度: 280°C

四重極温度: 150°C

イオン化法: EI ポジティブ

イオン化電圧: 70 eV

測定モード: MRM モード

HRGC/MS 測定条件

「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。

3. LOD 及び LOQ の推定

最低濃度の検量線作成用標準液を GC-MS/MS により繰り返し測定(10回)し、測定値の標準偏差(σ)を求め、 3σ を LOD、 10σ を LOQ とした。また、操作ブランク試験を 6 回行い、操作ブランクが認められる分析対象物については、操作ブランク値の標準偏差の 3 倍を LOD、10 倍を LOQ として求めた。検量線作成用標準液の繰り返し測定から算出した値と比較し、大きい方を本分析法の LOD 及び LOQ とした。

C. 研究結果及び考察

検量線作成用標準液の繰り返し測定、及び操作ブランク試験より本分析法の試料測定時(50 g 使用時)の LOD 及び LOQ を推定した。PCDD/PCDFs の LOD は 0.010~0.069 pg/g、LOQ は 0.035~0.23 pg/g であった。Co-PCBs の LOD は 0.0088~0.35 pg/g、LOQ は 0.029~1.2 pg/g であった。一部の Co-PCBs において操作ブランク値が認められたものの、全ての値が検量線作成用標準液の繰り返し測定の標準偏差から推定した値であった。食品中のダイオキシン類分析の暫定ガイドラインでは、LOD や操作ブランク値などの許容性を判断する基準として、目標検出下限値が示されている。本分析法の試料測定時の LOD を目標検出下限値と比較すると、PCDD/PCDFs については、2,3,7,8-TCDF を除き目標検出下限値を達成することができなかった。但し、PCDD/PCDFs の LOD は、最大でも目標検出下限値の 2 倍程度であり、目標検出下限値と比較し著しく高くはなかった。一方、Co-PCBs については、全ての異性体の LOD が目標検出下限値を下回った。

GC-MS/MS によるダイオキシン類分析の性能を評価するため、ダイオキシン類濃度が付与されている認証標準試料を分析した。認証値が付与されている異性体については、全ての異性体で LOQ 以上の分析値が得られ、認証値の平均値 $\pm 2SD$ の範囲内であった。また、LOQ 以上と

なったその他の異性体についても、分析値は参考値の平均値±2SDの範囲内であった。

さらにダイオキシン類濃度が比較的高い魚試料(7種計14試料)をGC-MS/MS並びにHRGC/MSによるダイオキシン類分析を行い、ダイオキシン類異性体の実測濃度を比較した。GC-MS/MSはHRGC/MSと比較してLODが高いため、汚染濃度が低いPCDD/PCDFsでLOD未満となった異性体が多くなった。LOQ以上となった殆どの異性体について、GC-MS/MSで得られた実測濃度はHRGC/MSの実測濃度の±20%以内に収まり、両者の濃度は良く一致していた。また、各試料のPCDD/PCDFs、Co-PCBs、及びそれらの合計の毒性等量(TEQ)濃度についても比較した。LOD未満となった異性体の実測濃度はゼロとしてTEQ濃度を算出した。GC-MS/MSで得られた各試料のTEQ濃度は、HRGC/MSと比べ、PCDD/PCDFsで平均100%(範囲:88~108%)、Co-PCBsで平均103%(範囲:88~111%)であった。また、PCDD/PCDFsとCo-PCBsの合計値で平均103%(範囲:90~110%)であった。TEQ濃度についても両者で良く一致していた。

GC-MS/MSはHRGC/MSと比べると装置の感度は劣るものの、ダイオキシン類濃度が比較的高い魚試料に限れば、ダイオキシン類分析の測定法として有効であると考えられた。

D. 結論

GC-MS/MSによるダイオキシン類の分析はHRGC/MSと比較すると装置の感度の面では劣るものの、ダイオキシン類濃度が比較的高い魚試料についてはHRGC/MSと良く一致した分析値が得られた。近年、より高感度なGC-MS/MSが各メーカーから発売されている。これらのGC-MS/MSを用いれば、HRGC/MSに近い感度が得られることから、ダイオキシン類分析における有力な選択肢の一つになり得ると考えられる。

E. 研究業績

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし