令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金

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のための研究

総括・分担研究報告書

研究代表者

国立医薬品食品衛生研究所　食品部　堤　智昭

研究分担者

国立医薬品食品衛生研究所　食品部　堤　智昭

国立医薬品食品衛生研究所　食品部　鈴木美成

東京大学医学部附属病院　総合周産期母子医療センター　鹿嶋晃平

国立医薬品食品衛生研究所　安全情報部　登田美桜

国立医薬品食品衛生研究所　安全性生物試験研究センター　平林容子

国立医薬品食品衛生研究所　生薬部　伊藤美千穂

令和 7 年(2025 年)8月

目 次

Ⅰ．総括研究報告書

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のための研究 ．．1
堤 智昭

Ⅱ．分担研究報告書

(1) 食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

堤 智昭

(1-1) 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 ．．．．41

(1-2) トータルダイエット試料の分析によるポリ塩化ビフェニル摂取量推定 ．．．．56

(1-3) トータルダイエット試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定

(1-3-1) 食品中の有機フッ素化合物分析法の基礎検討 ．．．．．．．．．70

(1-3-2) トータルダイエット試料中の有機フッ素化合物の分析及び
その摂取量推定 ．．．．．．．．．84

(1-4) 乳幼児の一食分試料を用いたダイオキシン類摂取量調査 ．．．．．．．．．94

(2) 食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究 ．．104

鈴木 美成

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

堤 智昭

(3-1)GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

(3-1-1) EI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討．．152

（3-1-2） APCI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析
の検討 211

（3-2） LC-MS/MSによる食品中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の分析法の検討 . . . 228

（3-3） 食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討 252

（4） 母乳のダイオキシン類汚染の実態調査と乳幼児の発達への影響に関する研究. . . 291

鹿嶋 晃平

（5） 国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害物質の調査に関する研究 298

登田 美桜

（6） 原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究

平林 容子

(6-1) ラットを用いたプベルル酸等の毒性試験 317

(6-2)プベルル酸の遺伝毒性試験 328

（7） 紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究

伊藤 美千穂

(7-1)プベルル酸産生菌の性状及び紅麹製品への混入メカニズムの解析 . . . 339

(7-2)化合物 Y 及び化合物 Z の立体構造解明 358

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表 376

Ⅰ．総括研究報告書

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

その手法開発のための研究

研究代表者　堤　智昭

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金(食品の安全確保推進研究事業)
総 括 研 究 報 告 書

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 その手法開発のための研究

研究代表者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

本研究では、食品を介した有害化学物質(ダイオキシン類等の残留性有機汚染物質や有害元素等)の摂取量を適時かつ継続的に調査すること目的として研究を実施した。また、緊急に追加された研究課題として、紅麹に由来するいわゆる健康食品に起因する腎障害等の健康被害事例について、その原因物質や発生機序の解明等を行った。

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

(1-1)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

今年度に作製したマーケットバスケット(MB)方式によるトータルダイエット(TD)試料を用いて、ダイオキシン類(PCDD/PCDFs及びCo-PCBs)の国民平均一日摂取量を推定した。全国7地区8機関で調製したTD試料を分析した結果、ダイオキシン類の全国平均摂取量は0.41 pg TEQ/kg bw/dayと推定された。この値は、日本の耐容一日摂取量(TDI: 4 pg TEQ/kg bw/day)の約10%であった。10群(魚介類)からのダイオキシン類摂取量が全体の約9割を占めていた。ダイオキシン摂取量は本研究で調査を開始した1998年度以降、緩やかな減少傾向を示している。本年度のダイオキシン類摂取量の平均値は1998年の平均値と比較すると23%程度であった。

(1-2) トータルダイエット試料の分析によるポリ塩化ビフェニル摂取量推定

今年度に作製した MB 方式による TD 試料を用いて、ポリ塩化ビフェニル(PCBs)の国民平均一日摂取量を推定した。過去の研究から PCBs 摂取量に占める割合の高い食品群である 10 群(魚介類)と 11 群(肉類、卵類)のみを対象に PCBs 異性体分析を実施した。全国 10 地域で調製した TD 試料を分析した結果、総 PCBs の全国平均摂取量は、5.0 ng/kg bw/day と推定され、この値は日本の暫定一日摂取許容量の 0.1%程度であった。リスク評価の為の情報が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結果、NDL-PCBs の全国平均摂取量は 4.6 ng/kg bw/day と推定された。NDL-PCBs については TDI 等が定まっていないため、代表的な NDL-PCBs 異性体(PCB 28, 52, 128, 153, 180)の毒性データを用いて暴露マージン(MOE)を計算した結果、これらの異性体に対する MOE は 10,672～764,062 と十分に大きかった。

(1-3)トータルダイエット試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定

(1-3-1) 食品中の有機フッ素化合物分析法の基礎検討

食品中の有機フッ素化合物(PFAS)の内、長鎖 PFAS(C10 以上)を対象として分析法の改良を行った。食品 4 種を対象に固相抽出カラムを用いた分析法の添加回収試験を実施した結果、PFDA, PFUdA, PFDoA, PFTeDA, PFDS 及び PFDoS については良好な回収率(70～120%)が得られた。一方で、PFTrDA, PFHxDA 及び PFODA については、内標準法においても十分な回収率が得られなかった。そこで、固相担体への不可逆的吸着を疑い液液分散マイクロ抽出法を適用した結果、牛肉においていずれの長鎖 PFAS も良好な回収率が得られた。

(1-3-2)トータルダイエット試料中の有機フッ素化合物の分析及びその摂取量推定

前年度に引き続き、2022～2023 年度に、マーケットバスケット方式により調製した TD 試料を用いて、PFAS の摂取量を推定した。2 地域で調製した TD 試料に含まれる PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA を分析し、各分子種の一日摂取量を推定した。その結果、体重(50 kg と仮定)あたりの一日摂取量(Lower-bound～Upper-bound)は、PFOS では 0.23～5.2 ng/kg bw/day、PFOA では 0.025～1.1 ng/kg bw/day、PFHxS では 0～0.44 ng/kg bw/day、PFNA では 0.063～2.0 ng/kg bw/day の範囲と推定された。PFOS 及び PFOA の推定摂取量は、食品安全委員会が食品健康影響の指標値として示した TDI(20 ng/kg bw/day)の 1.1～26%及び 0.13～5.6%に相当した。

(1-4)乳幼児の一食分試料を用いたダイオキシン類摂取量調査

一食分試料のダイオキシン類分析を実施し、その分析結果に基づき乳幼児の昼食におけるダイオキシン類摂取量を推定した。一食分試料からのダイオキシン類摂取量の平均値(範囲)は、乳児で 1.2 pg TEQ/食(0.042～15 pg TEQ/食)、幼児で 5.7 pg TEQ/食(0.011～78 pg TEQ/食)であった。幼児の一食分試料の平均値は乳児と比較すると 5 倍程度高かった。幼児では脂肪含量が比較的高い魚を使用した一食分試料が多かったため、ダイオキシン類摂取量が高くなったと考えられた。乳児の体重を 8.64 kg、幼児の体重を 10.1 kg と仮定した場合、一食分試料からのダイオキシン類摂取量(平均値)の日本の耐容一日摂取量(4 pg TEQ/kg bw/day)に占める割合は、乳児で 3%程度、幼児で 14%程度であった。

(2) 食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

今年度に作製した MB 方式により調製した TD 試料の分析を通じ、ヒ素 [総ヒ素および無機ヒ素(iAs) を含むヒ素化学種]、カドミウム、水銀 [総水銀及びメチル水銀 (Me-Hg)]、鉛を含む 42 元素および 5 化学種の全国・全年齢層における平均摂取量 (推定一日摂取量) を推定し、各元素類の摂取量及び、各元素類の摂取に寄与する食品群について解析した。また、耐用摂取量等の Health Based Guideline Value (HBGV) が設定されている元素類については、必要に応じて一日当たりの値に換算した後、推定一日摂取量と HBGV の比 (ハザード比、HQ) を求めた。その結果、HQ は iAs (1.28～1.80)、Ni (0.14～1.00)、Mo (0.80)、Cd (0.24～0.68)、Mn (0.49)、Ba (0.04～0.37)、Me-Hg (0.24～0.36)、Al (0.16～0.33)、B (0.11～0.23) の順で高い値を示した。また、鉛、カドミウム、総ヒ素、総水銀については、1977 年以後に推定された摂取量の経年変化の情報を更新した。さらに、健康リスクの高い iAs については地域別・年齢層別の摂取量を、幼児の Pb については確率論的な摂取量推定も検討した。また、推定一日摂取量を算出する際の、各種重み付け方法について比較した。

(3)有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1)GC-MS/MSによる食品中のダイオキシン類分析の検討

(3-1-1)EI法を用いたGC-MS/MSによる食品中のダイオキシン類分析の検討

PCDD/PCDFs測定に使用するGCカラムをBPX-DXNに変更し、EI法を用いたGC-MS/MSによるダイオキシン類分析の性能評価を実施した。ボラ、牛肉、及び鶏卵を用いてGC-MS/MSと高分解能GC/MSによるダイオキシン類の分析結果を比較した。GC-MS/MSの各異性体濃度の平均値は高分解能GC/MSに対して、ボラで94～111%、牛肉で93～107%、及び鶏卵で91～109%であり良く一致していた。また、マグロ、牛肉、および鶏卵を対象にダイオキシン類の添加回収試験を実施した結果、各異性体の真度は88-106%、併行精度は10%以下であり、良好な結果が得られた。さらに、認証標準試料(キングサーモン)を分析した結果、定量下限値(LOQs)以上となった異性体は認証

値（又は参考値）の平均値±2SDの範囲内であった。

(3-1-2) APCI法を用いたGC-MS/MSによる食品中のダイオキシン類分析の検討

APCI法を用いたGC-MS/MSによるダイオキシン類分析の測定条件を検討した。検討した測定条件により検量線作成用標準液を測定した結果、相対感度係数（RRF）の変動係数は10%以下であり、良好な結果であった。また、最低濃度の検量線作成用標準液を繰り返し測定（10回）して、試料測定時（50 g使用時）のダイオキシン類のLOQsを推定した。魚試料への適用性を検討するため、GC-MS/MSを用いて認証標準試料（キングサーモン）のダイオキシン分析を実施した。ダイオキシン類の分析結果は、概ね認証値（又は参考値）の平均値±2SDの範囲内に収まっていたが、一部のダイオキシン類については夾雑物による妨害が疑われた。

(3-2) LC-MS/MS による食品中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の分析法の検討

食品中のベンゾトリアゾール類（BT）の分析法を開発し実態調査や TD 試料の分析を行うことを目的として、検討した分析法の適用性を検証した。魚介類試料 7 食品を対象とした添加回収試験を実施した結果、9 種の BT で良好な真度（72.9%～119.4%）と併行精度（<12.2%）が認められた。TD 試料 – 第 10 群（魚介類）試料を対象とした添加回収試験では、8 種の BT で良好な真度（77.7%～117.1%）が認められた。検討した何れの試料においても S/N は 10 以上であったことから、本法における定量限界値は 0.4 ng/g と設定した。また、試料中の含量を測定したところカキ試料に UV-328 (0.6 ng/g)が検出された。

(3-3) 食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

PSA 固相ミニカラムによる精製を追加検討し、リン酸エステル系難燃剤（OPFRs）一斉分析法の検出下限値の推定、添加回収試験を実施した。推定された検出下限値は、少なくとも TDI が示されている OPFRs については、TD 調査において TDI との比較を行う上で、概ね適切な検出下限値であると考えられた。サーモン、玄米、牛乳を用いて添加回収試験を行った結果、玄米におけるトリス(3,5-ジメチルフェニル)ホスフェート（T35DMPPhP）、牛乳における T35DMPPhP、トリス(2-エチルヘキシル)ホスフェート（TEHP）を除いて 72～120%の回収率が得られ概ね良好な結果であった。

(4) 母乳のダイオキシン類汚染の実態調査と乳幼児の発達への影響に関する研究

初産婦の出産後 1 か月の母乳中のダイオキシン類濃度を調査した。今年度に入手した母乳のダイオキシン類濃度は 5.04±1.74 pg TEQ/g fat（平均±標準偏差）であった。平均値の経緯をみると長期的に認められている漸減傾向が継続していた。2013 年度から 2024 年度までの本研究班での調査した中で、児の発育発達について十分なデータが得られた 228 名を対象として、母乳中のダイオキシン類による影響について、濃度と児の身体発育や発達との関連を検討したが、今回の検討では明らかな関連は見いだせなかった。

(5) 国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害物質の調査に関する研究

食品中にはしばしば環境や食品そのものに由来する有害化学物質が含まれるが、その実態やリスクの大きさについては必ずしも十分な情報があるわけではない。国民の健康保護のためには食品の安全性確保は重要課題であるが、全てのリスクを知ることや全てに対応することは不可能である。そこでリスクの大きさに基づいた、リスク管理の優先順位付けが必要になる。本課題では世界の食品安全担当機関が評価している各種汚染物質の MOE に関する情報を継続的に収集した。また近年、世界中で PFAS についての評価や対策にいくつか重要な進展があり、その状況をまとめた。

(6) 原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究

紅麹菌を用いて製造されたいわゆる健康食品による腎障害等の健康被害を起こした事例につ

いて、その原因物質および発生機序の解明を目的に、原因物質の一つとされるプベルル酸(PA)及び新たに構造解析された2化合物を用いてラットによる毒性試験を実施し、得られた結果をまとめた。また、PA については遺伝毒性試験も実施した。

(7)紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究

紅麹製品における PA の混入経路を明らかにするために、製造工場で拭き取り調査により得た PA 産生性を有するアオカビ(*Penicillium adametzioides*)と製造に実際に用いられた紅麹菌(*Monascus pilosus*)を用いた共培養試験を実施した。その結果、いくつかの条件において *P. adametzioides* は、*M. pilosus* とともに米培地で生育し、PA を産生した。この結果より、工場に生息していた *P. adametzioides* が紅麹生産のいずれかの工程で混入し、紅麹製品の PA 汚染を引き起こしたと考えられた。また、同じく紅麹製品から見出された化合物 Y 及び化合物 Z について、その平面構造のみが明らかになっていたため、化合物 Y 及び Z の単離品及び合成品を対象に、NMR や結晶スポンジ法により立体構造を決定した。

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
鈴木美成

東京大学医学部附属病院総合周産期母子医療センター
鹿嶋晃平

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部
登田美桜

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター
平林容子

国立医薬品食品衛生研究所生薬部
伊藤 美千穂

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所
高附 巧、張 天斉、足立利華、五十嵐敦子、川又香予、鍋師裕美、山﨑由貴、髙橋未来、柏原奈央、北山育子、中村公亮、畝山智香子、井上依子、吉成知也、出水庸介、豊田武士、杉山圭一、花尻(木倉)瑠理、増本直子、田中誠司

北海道立衛生研究所
青柳直樹、市橋大山、吉田優也

新潟県保健環境科学研究所
五井千尋

埼玉県衛生研究所
中代 智菜美、今井浩一

横浜市衛生研究所
石井敬子、前川ゆずは、森田昌弘

名古屋市衛生研究所
野口昭一郎、高木恭子、宮崎仁志

和歌山県環境衛生研究センター
新宅沙織

香川県環境保健研究センター
安永 恵、櫻井 麻里南

沖縄県衛生環境研究所
仲眞 弘樹

福岡県保健環境研究所
佐藤 環、飛石和大、新谷依子、中村麻子、堀 就英

立命館大学大学院薬学研究科
井之上 浩一

立命館大学薬学部薬学科
高山卓大、加藤彩花、樋口朋哉

埼玉県立小児医療センター
岡 明

医療法人成和会山口病院
山口 暁

A. 研究目的

有害物質の摂取量調査の結果は、リスク管理のための行政施策の策定やその効果の検証に科学的な知見を与えることから、極めて重要となる。本研究では、一般的にリスク管理が難しいとされる食品に非意図的に含まれてくる有害物質を対象として、トータルダイエット（TD）調査等の摂取量調査を適時又は継続的に実施することを目的とした。食品からの摂取量調査の対象物質としては、ダイオキシン対策推進基本指針によりダイオキシン類暴露状況の調査が求められているダイオキシン類の他、ポリ塩化ビフェニル（PCBs）、有機フッ素化合物（PFAS）、有害元素類等とした。近年、社会的関心が高まっているPFASについては、分析法を開発した上で、その適用性の検証のためTD試料を分析し、摂取量推定を開始した。ダイオキシン類については乳児にとって主要な食品となる母乳からの摂取量と、その経年変化についても調査した。また、残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約（POPs条約）や化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）の規制対象であるものの、食品からの摂取量の情報が乏しい有害物質であるベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤（BT）及びリン酸エステル系難燃剤（OPFRs）については、摂取量推定に必要となる分析法を検討した。さらに、リスク管理の優先順位付けに必要となる各種有害物質の暴露マージン（MOE）についての情報を世界の食品安全担当機関等より収集し整理した。以上の研究を遂行するため下記（1）～（5）の分担課題を実施した。また、令和6年度、緊急に追加された研究課題として、紅麹に由来するいわゆる健康食品に起因する腎障害等の健康被害事例について、その原因物質や発生機序の解明等を行うため下記（6）及び（7）の分担課題を実施した。

（1）食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

（1-1）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

（1-2）トータルダイエット試料の分析によるポリ塩化ビフェニル摂取量推定

（1-3）トータルダイエット試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定

（1-3-1）食品中の有機フッ素化合物分析法の基礎検討

（1-3-2）トータルダイエット試料中の有機フッ素化合物の分析及びその摂取量推定

（1-4）乳幼児の一食分試料を用いたダイオキシン類摂取量調査

（2）食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

（3）有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

（3-1）GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の検討

（3-1-1）EI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

（3-1-2）APCI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

（3-2）LC-MS/MS による食品中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の分析法の検討

（3-3）食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

（4）母乳のダイオキシン類汚染の実態調査と乳幼児の発達への影響に関する研究

（5）国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害物質の調査に関する研究

（6）原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究

（6-1） ラットを用いたプベルル酸等の毒性試験

（6-2）プベルル酸の遺伝毒性試験

（7）紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究

（7-1）プベルル酸産生菌の性状及び紅麹製品への混入メカニズムの解析

(7-2)化合物 Y 及び化合物 Z の立体構造解明

B. 研究方法

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

(1-1) 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

TD 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 2017 年～2019 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。さらに第 14 群として飲料水を試料とした。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。

ダイオキシン類の分析

「食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン」(以下、ガイドライン)に従ってダイオキシン類を分析し、一日摂取量を推定した。

ダイオキシン類摂取量の推定

TD 試料におけるダイオキシン類の毒性等量(TEQ)濃度に、各食品群の食品摂取量を乗じてダイオキシン類の一日摂取量を推定した。TEQ の算出には 2005 年に定められた毒性等価係数(2005 WHO-TEFs)を使用し、分析値が検出下限値(LOD)未満の場合は 0 として計算した。また、一部については、最近公表された新しい TEFs(2022 WHO-TEFs)を用いた場合のダイオキシン類の一日摂取量も参考値として算出した。

(1-2)トータルダイエット試料の分析による PCBs 摂取量推定

TD 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 2017 年～2019 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(計 13 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。

10 群及び 11 群の前処理

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撹拌した。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。

PCBs の測定

高分解能 GC/MS を使用して下記の条件で測定した。

GC カラム:HT8-PCB(トレイジャン サイエンティフィック) 内径 0.25 mm×60 m
注入方式:スプリットレス
注入口温度:280℃
注入量:2.0 µL
昇温条件:100℃(1 分保持)-20℃/分-180℃-2℃/分-260℃-5℃/分- 300℃(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℃
イオン源温度:290℃
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

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 の一日摂取量を推定した。推定にあたっては、分析値が LOD 未満の場合は 0 として計算した。

(1-3) トータルダイエット試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定

(1-3-1)食品中の有機フッ素化合物分析法の基礎検討

試験溶液の調製

食品試料 5 g をアセトニトリル 20 mL を用いてホモジナイズ抽出を行った。添加回収試験の際には、試料に標準品混合溶液と内部標準物質(13C 標識体)を添加した。その後、4℃、15,000 rpm で 10 分間遠心分離を行い、上清を回収した。さらに、残留物にアセトニトリル 10 mL を加えて同様にホモジナイズ抽出と遠心分離を行い、上清を回収した。回収した上清を、ロータリーエバポレーターを用いて約 3 mL に減圧濃縮した。この濃縮した溶液を酢酸緩衝液で約 10 mL に希釈したものを食品抽出液とした。

固相抽出カラムによる精製:PRiME HLB(1 mL/30 mg、Waters 社製)を用いて、試料を精製した。まず、食品抽出液 2 mL を通液し、分析対象物質を保持させた。通液後、0.1%ギ酸溶液 1 mL と水 1 mL を用いて洗浄を行い、3 分間カラムを乾燥させた。その後、0.5%トリエチルアミン含有アセトニトリル 2 mL を通して PFAS を溶出し、ポリプロピレン製の試験管に回収した。この抽出液を、窒素吹付機を用いて濃縮乾固し、100 µL の 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液/アセトニトリル(50/50, v/v)によって再溶解した。この溶液 10 µL を LC-MS/MS に注入した。

液液分散マイクロ抽出法による精製:食品抽出液の 1 mL をポリプロピレン製チューブに分取しアセトニトリル 3 mL を添加して攪拌した。次いで NaCl 300 mg を加えて攪拌後、4℃、2,600×g にて 3 分間、遠心分離を行った。その後、上清 3.5 mL を分取し窒素吹付機を用いて約 0.7 mL まで濃縮した。これに pH 2.0 に調製した 6%の NaCl 液を 5 mL 加えた。ここにクロロホルム 800 µL を加え攪拌後、4℃、2,600×g にて 5 分間、遠心分離を行った。下層(クロロホルム層)を全量、窒素吹付機を用いて濃縮乾固し、100 µL の 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液/アセトニトリル(50/50, v/v)によって再溶解した。この溶液 10 µL を LC-MS/MS に注入した。

LC-MS/MS 測定条件

LC 装置:Waters 社製 Acquity H Class
MS 装置:Waters 社製 Xevo TQXS
Capillary voltage 2.0 kV
Extractor voltage 3 V
RF lens voltage 2.5 V
Source temperature 150℃
Desolvation temperature 400℃
MS mode MRM mode
Cone/desolvation gas flows 50/800 L/hr
Cone voltage 15-50 V

Collision energy 15–50 eV
イオン化モード：ESI ネガティブモード
分離カラム： InertSustainSwift C8（2.1×100 mm, 1.9 µm, GL Sciences 社製）
Delay カラム：Delay Column for PFAS（3.0×30 mm, ジーエルサイエンス社製）
移動相：A 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液, B 5 mmol/L 酢酸アンモニウム含有アセトニトリル
グラジエントプログラム：A/B=50/50（0 min）→15/85（13 min）→2/98（13.1–17 min）→50/50（17.1–20 min）
流速：0.2 mL/min
注入量：10 µL

(1-3-2)トータルダイエット試料中の有機フッ素化合物の分析及びその摂取量推定

TD 試料

PFAS 摂取量を推定するための TD 試料は、次のように調製した。厚生労働省が実施した平成 29 年～令和元年（2017～2019 年）の国民健康・栄養調査の地域別食品摂取量（1 歳以上）を小分類ごとに平均し、各食品小分類の地域別摂取量とした。本分担研究課題では、令和 4 年度及び 5 年度（2022 年度及び 2023 年度）において、前年度と異なる 2 地域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食品を計量し、食品によっては調理した後、食品群（計 13 食品群）ごとに混合均一化したものを試料とした。さらに飲料水（水道水）の群を加えて計 14 食品群とした。

試験溶液の調製

均一化した試料 5.0 g を 100 mL ポリプロピレンチューブに量りとり、各分子種の ^{13}C 標識体を 10 ng/mL の濃度で含む IS 混合標準溶液 0.1 mL を加えた（試料中濃度として 0.2 ng/g を添加）。次いで、3 群及び 13 群の試料については、水 5 mL も加えた。試料にアセトニトリル 20 mL を加え、ポリトロン（Model PT3100D、KINEMATICA 製）を用いて 1 分間ホモジナイズした後、0℃、3,000 rpm で 5 分間遠心分離を行った。得られた上清をナスフラスコに移した後、残渣にアセトニトリル 10 mL 及びステンレスボール 1 個を加え、振とう機（エルビス EL 型、スギヤマゲン製）を用いて 5 分間振とうした。0℃、3,000 rpm で 5 分間遠心分離を行った後、得られた上清を合わせ、40℃で 10 mL 以下まで減圧濃縮した。これに 20 mM 酢酸緩衝液（pH5.2）15 mL を加えたものを抽出液とした。

WAX カラムに 2%（v/v）アンモニア水含有メタノール 10 mL、メタノール 10 mL 及び 20 mM 酢酸緩衝液（pH5.2）10 mL を順次注入し、コンディショニング及び平衡化を行った。このカラムに抽出液を全量負荷し、25 mM 酢酸アンモニウム水溶液 10 mL 及びメタノール 15 mL で洗浄した後、2%（v/v）アンモニア水含有メタノール 4 mL で溶出した。窒素気流により溶媒を留去し、メタノール 0.5 mL で再溶解した後、0.22 µm PES フィルターでろ過したろ液を試験溶液とした。PFOS の分析では、必要に応じて、ろ液をメタノールで 5 倍希釈したものを試験溶液とした。

LC-MS/MS 測定条件

測定条件の詳細は、本年度の分担研究報告書「(1-3-2)トータルダイエット試料中の有機フッ素化合物の分析及びその摂取量推定」に示した。

PFAS 摂取量の推定

TD 試料における各分子種の濃度に各群の食品摂取量を乗じ、PFOS、PFAS、PFHxS 及び PFNA の摂取量を推定した。なお、14 群（飲料水）の摂取量は 250 g/day とした。推定にあたっては、定量下限値（LOQ）未満の分析値を 0 として扱う場合（Lower-bound, LB）及び LOQ 未満の分析値を LOQ として扱う場合（Upper-bound, UB）の両方で摂取量を算出した。体重あたりの摂取量は、体重を 50 kg として仮定して算出した。

(1-4)乳幼児の一食分試料を用いたダイオキシン類摂取量調査

一食分試料

昨年度に作製した幼児(9～11 ヶ月想定、32 試料)及び乳児(1～2 歳想定、32 試料)の一食分試料を分析した。幼児の一食分試料は、各試料について“主食・汁物”、“その他”、及び“ミルク”の 3 つに分けて均一化した後、各々をダイオキシン類分析に供した。ただし、ミルクについては主な 3 つの製造会社の調製粉乳を各々の製品に記載の調製方法に従い調製した後、ダイオキシン類分析に供した。幼児の一食分試料は、各試料について“主食・汁物”及び“その他”の 2 つに分けて均一化した後、各々をダイオキシン類分析に供した。

“その他”及び“ミルク”の試料

均一化した試料 100.0 g をビーカーに量りとり、クリーンアップスパイク(^{13}C 標識した PCDD/PCDFs 各 40 pg(OCDD/OCDF は 80 pg)、ノンオルト PCBs 各 100 pg、モノオルト PCBs 各 2.5 ng)を加えた後、2 mol/L 水酸化カリウム水溶液を 200 mL 加え室温で約 16 時間放置した。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 150 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。ヘキサン層を合わせ、2%塩化ナトリウム溶液 150 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、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルカラムをヘキサン 200 mL で洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサン 200 mL で溶出した。溶出液は溶媒を留去し、約 2 mL のヘキサンに溶解した。ヘキサンで湿式充填したアルミナカラムに試験溶液を注入し、ヘキサン 150 mL で洗浄後、2%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 200 mL 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 200 mL 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 500 μL(^{13}C 標識体 2.5 ng)を添加し高分解能 GC/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スカラムに注入し、10 分程度放置した。25%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 80 mL でカラムを洗浄後、カラムを反転させ、トルエン 80 mL で PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリンジスパイク 20 μL(PCDD/PCDFs 用 ^{13}C 標識体 40 pg、ノンオルト PCB 用 ^{13}C 標識体 100 pg)を添加し高分解能 GC/MS に供した。

“主食・汁物”の試料

均一化した試料 100.0 g をナスフラスコに量りとり、クリーンアップスパイク(^{13}C 標識した PCDD/PCDFs 各 40 pg(OCDD/OCDF は 80 pg)、ノンオルト PCBs 各 100 pg、モノオルト PCBs 各 2.5 ng)を加えた後、アセトン 150 mL、ヘキサン 150 mL を加え 1 時間振とう抽出をした。抽出溶液を吸引ろ過し、残渣にアセトン 50 mL、ヘキサン 50mL を加え 15 分間振とうし、同様の操作を行なった。抽出液を分液ロートに合わせ、2%塩化ナトリウム溶液 150 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、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。この溶液を“その他”及び“ミルク”の試料と同様に、多層シリカゲルカラム、アルミナカラム、及び活性炭分散シリカゲルリバースカラムにより精製後、シリンジスパイクを添加し高分解能 GC/MS に供した。

ダイオキシン類の測定

測定条件の詳細は、本年度の分担研究報告書「(1-1)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」に示した。

(2)食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

ICP-MS による元素分析

多元素分析は、分析用試料 0.50 g を石英製分解容器に量りとり、硝酸 5 mL 及び過酸化水素水 2 mL を加えた。水 5 mL 及び過酸化水素水 2 mL を加えた TFM 製分解容器に前述の石英製分解容器を入れ、マイクロ波分解装置により分解した。

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。ただし、14 群の試料に対しては、試料 40 mL に対し硝酸 5 mL、過酸化水素 2 mL を添加し、50 mL に定容したものを ICP-MS 用の分析試料とした。

ヒ素の化学形態別分析

試料 2.0 g を量り取り、0.3 mol/L 硝酸溶液 5 mL を加え、100℃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 5.0 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 pH 2.7 (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たものを、測定溶液とした。

測定試料 10 µL を HPLC カラムに抽入し、ヒ素の化学種別分析を行った。定量対象とした As 化学種は、無機ヒ素 [iAs (As(III)と As(V)の合計)]、モノメチルアルソン酸 (MMAs)、ジメチルアルシン酸 (DMAs)、およびアルセノベタイン (AsB) とし、全てヒ素としての濃度で示した。

総水銀の分析

総水銀 (Hg) は総水銀計を用いて測定を行った。標準溶液及び水銀濃度が 0.01 mg/kg 未満の試料の測定には低濃度用の吸光セル、水銀濃度が 0.01 mg/kg 以上の試料の測定には高濃度用の吸光セルを用いた。サンプルボートは、5 mol/L 硝酸溶液に 12 時間以上浸け置きした後、水でよくすすぎ、使用する直前に 750℃で 3 時間加熱した。冷却後、総水銀計により 850℃で 4 分間再加熱したものを使用した。添加剤 B は使用する直前に 750℃で 5 時間加熱したものを、4 群の T-Hg 測定の際に添加した。標準原液を適宜量りとり、100 mg/L L-システイン溶液で希釈し、検量線用標準溶液とした。100 mg/L L-システイン溶液は、L-システイン 100 mg を量り採り、水 800 mL 及び硝酸 2 mL を加え溶解後、水で 1000 mL に定容して調製した。

メチル水銀の分析

試料 2.0 g を量り取り、10% TMAH 溶液 5 mL を加え、80℃で 2 時間静置した。なお、30 分おきによく振り混ぜた。2,600×g で 10 分間遠心分離後、上澄みを 20 mL メスフラスコに移した。残渣に水 5.0 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。塩酸を用いて pH 2.3 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たものを、測定溶液とした。

1 群の場合には、試料 2.0 g に対して人口唾液 (1.667 mg/mL NaCl, 0.5 mg/mL NaSCN, 1.833 mg/mL Na_2SO_4, 0.5 mg/ml $NaHCO_3$, 1.5 mg/mL KCl, 2.0 mg/mL KH_2PO_4, $CaCl_2 \cdot H_2O$, 0.833 mg/mL α-アミラーゼ, 0.333mg/mL 尿酸, 0.033 mg/mL 尿素, 2.5 mg/mL ムチン) を 3 mL 添加し、37℃で 15 分静置した後、25% TMAH を 2 mL 添加し 80° C で 2 時間静置した。以降の操作は、上記と同様に行った。メチル水銀 (MeHg) は水銀としての濃度で示した。

統計解析

空試験を 3 回以上行い、空試験の信号強度の標準偏差を 10 倍した値を検量線の傾きで除した値を LOQ とした。HPLC-ICP-MS によるヒ素化合物の分析においては、空試験のピーク範囲における信号を積分した値を利用し、信号強度が低い場合にはポアソン分布に近似していると仮定し

て、標準偏差はピーク面積値の２乗根を用いた。

LOQ 未満の結果を含むデータの取扱いに関しては、LOQ 未満となったデータは 0（ND=0）と 1/2LOQ（ND=0.5LOQ）の代入法両方で算出することを基本とした。

元素類摂取量は、TD 試料中化学物質濃度に食品消費量を乗じて推定した。この推定値は地域別の全年齢層平均摂取量（地域別摂取量）に相当する。地域別摂取量を平均した値を全国・全年齢層平均摂取量（推定一日摂取量）とした。

各種元素類の摂取量推定値や摂取量に寄与する食品群の変動を明らかにし、原因等について考察した。

幼児（1-6 歳）を対象とした鉛の確率論的摂取評価に用いる体重当たり喫食量の解析には 2017 年から 2019 年に行われた国民健康・栄養調査の体重当たり喫食量データを、濃度データには 2022 - 2024 年度の本研究班の成果を用いた。LOQ 未満の値には 0-LOQ 間の累積分布関数を用い、モデル選択における不確実性を考慮するため、Bayesian model averaging (BMA) を適用した、二次元モンテカルロシミュレーション (2D-MCS) を行った。

喫食量算出法の違いが摂取量推定に与える影響については、2017 年から 2019 年に行われた国民健康・栄養調査のデータを用いて、体重当たり喫食量を用いた。

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1) GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の検討

(3-1-1) EI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

<u>試験溶液の調整</u>

試料（50 g（認証標準試料は約 4 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 200 mL 加え室温で約 16 時間放置した。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 150 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 150 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 10 mL で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルをヘキサン 200 mL で洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサン 200 mL で溶出した。溶出液は溶媒を留去し、約 2 mL のヘキサンに溶解した。ヘキサンで湿式充填したアルミナカラムに試験溶液を注入し、ヘキサン 150 mL で洗浄後、2%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 200 mL 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 200 mL 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た後、活性炭分散シリカゲルリバースカラムに注入し、30 分程度放置した。ヘキサン 40 mL でカラムを洗浄後、25%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 60 mL でモノオルト 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スカラムに注入し、10 分程度放置した。25%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 80 mL でカラムを洗浄後、カラムを反転させ、トルエン 40 mL で PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリジンスパイクを添加し GC-MS/MS に供した。

<u>EI 法を用いた GC-MS/MS 測定条件</u>

1）装置

GC-MS/MS : TSQ 9000 トリプル四重極 GC-MS/MS システム（Thermo Scientific 社製） with advanced electron ionization (AEI) source

2)GC 条件

① 2,3,7,8 － TeCDD 、1,2,3,7,8 － PeCDD 、1,2,3,7,8 － PeCDF 、1,2,3,4,7,8 － 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 － TeCDF 、1,2,3,4,7,8 － HxCDF 、1,2,3,6,7,8 － 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:BPX-DXN(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:2 μL

昇温条件:120℃(2 分保持)-30℃/分-240℃(5 分保持)-0.7℃/分-254℃-8℃/分-310℃(4 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.2 mL/分)

②2,3,4,7,8－PeCDF、1,2,3,7,8,9－HxCDF

カラム:RH-12ms(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:2 μL

昇温条件:130℃(1 分保持)-15℃/分-210℃-3℃/分-310℃ (10 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.0 mL/分)

③Co-PCBs

カラム:RH-12ms(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:1 μL

昇温条件:130℃(1 分保持)-15℃/分-200℃-1℃/分-220℃-2℃/分-250℃-3℃/分-270℃-15℃/分-310℃(5 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.0 mL/分)

3)MS/MS 条件

イオン化法: EI; イオン化電圧: 50 eV; エミッション電流: 20 μA; イオン源温度: 320℃; 測定モード: SRM

(3-1-2)APGC 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

試験溶液の調整

本年度の分担研究報告書「(3-1-1)EI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討」と同様に実施した。

APGC 法を用いた GC-MS/MS 測定条件

1)装置

GC-MS/MS:7890 (Agilent Technologies) /Xevo TQ-XS タンデム四重極質量分析計(Waters 社製) with APCI source

2)GC 条件

① 2,3,7,8 － TeCDD 、1,2,3,7,8 － PeCDD 、1,2,3,7,8 － PeCDF 、1,2,3,4,7,8 － 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 － TeCDF 、1,2,3,4,7,8 － HxCDF 、1,2,3,6,7,8 － 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:BPX-DXN(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:1 μL

トランスファーライン温度: 320℃

昇温条件:140℃(1 分保持)-20℃/分-220℃-2℃/分-260℃(2.6 分保持) -5℃/分-292℃-1℃/分-293℃-15℃/分-320℃(7 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.5 mL/分)

②2,3,4,7,8－PeCDF、1,2,3,7,8,9－HxCDF

カラム:RH-12ms(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:1 μL

トランスファーライン温度:320℃

昇温条件:130℃(1 分保持)-15℃/分-210℃-3℃/分-310℃ (11 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.3 mL/分)

③Co-PCBs

カラム:RH-12ms(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:1 μL

トランスファーライン温度:320℃
昇温条件:130℃(1 分保持)-15℃/分-200℃-1℃/分-220℃-2℃/分-250℃-3℃/分-270℃-15℃/分-310℃(5 分保持)
キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.3 mL/分)
3)MS/MS 条件
イオン化法:APCI(+)
イオン源温度:150℃
コロナ電流:2 μA
コーンガス流量:270 L/h
AUX ガス流量:200 L/h
メイクアップガス流量:320 mL/min
コリジョンガス:アルゴン
測定モード:SRM

(3-2)LC-MS/MS による食品中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の分析法の検討

標準物質

UV-P、UV-PS、UV-9、UV-234、UV-320、UV-327、UV-328 及び UV-329: AccuStandard 製
UV-090 、UV-350 及び UV-360 : Toronto Research Chemicals 製
UV-326:富士フィルム和光純薬製
UV-928:BLD pharm 製
UV-P d_3及び UV-326 d_3:林純薬工業製
UV-PS d_4、UV-234 d_4、UV-320 d_4、UV-327 d_3、UV-328 d_4、UV-329 d_4、UV-350 d_4及び UV-928 d_4:ASCA GmbH 製
UV-360 以外の標準原液:各標準品 20 mg を精秤し、アセトンで溶解して 1000 mg/L 溶液を調製した。
UV-360 標準原液:標準品 20 mg を精秤し、アセトンで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。
安定同位体標識化合物標準原液:各標準品 2.5～5 mg を精秤し、アセトンで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。
検量線用混合標準溶液:各標準原液をメタノールで適宜希釈し、0.02～1 μg/L の混合溶液を調製した。この溶液には、定容前に内標準物質として安定同位体標識化合物を 0.4 μg/L となるように添加して調製した。
添加回収試験用混合標準溶液:各標準原液をメタノールで適宜希釈して、2 μg/L 混合溶液を調製した。この溶液には、定容前に安定同位体標識化合物を 20 μg/L となるように添加して調製した。
安定同位体標識化合物混合標準溶液:各安定同位体標識化合物標準原液をメタノールで適宜希釈して 20 μg/L 混合溶液を調製した。

試験溶液の調製

均一化した試料 5.0 g を量り採り、メタノール 30 mL を加えてホモジナイズした後、遠心分離して上清を分取した。残留物にメタノール 30 mL を加えて同様に操作し、得られた上清を合わせ、メタノールを加えて正確に 100 mL とした。この溶液から正確に 20 mL を採り、溶媒を除去した。これにヘキサン 30 mL 及び 2 w/v%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加えて振とう抽出した後、ヘキサン層を分取した。残留物にヘキサン 30 mL を加えて同様に操作し、ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、ろ別した後、約 1 mL まで濃縮した。ここにヘキサン 1 mL を加えて溶解した(①)。

5%含水シリカゲル 5 g に無水硫酸ナトリウム 1 g を積層したカラムに、ヘキサン 40mL を注入し、流出液は捨てた。これに、①を注入した後、10 vol%酢酸エチル含有ヘキサン 100 mL で溶出させた。負荷液及び溶出液を合わせて約 1 mL まで濃縮し、ここにヘキサン 1 mL を加えて溶解した(②)。

InertSep FL-PR(2 g/12 mL)にヘキサン 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに②を注入し、負荷液を捨てた後、5 vol%酢酸エチル含有ヘキサン 25 mL で溶出させた。溶出液の溶媒を除去した後、メタノールで正確に 10 mL にして LC-MS/MS により測定した。

LC-MS/MS による BT の測定

LC 装置:Waters 製 ACQUITY Premier
分離カラム:UHPLC PEEK Column InertSustain C18(内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μm、

GL Sciences 製)
移動相:A 蒸留水、B メタノール、C 5 mM ギ酸アンモニウム溶液(A/B/C = 9/90/1(0-27.0 min)→0/99/1 (27.1-60.0 min) → 9/90/1 (60.1-67 min))
流速:0.2 mL/min
注入量:5 µL
MS 装置:Waters 製 Xevo TQ-XS
キャピラリー電圧:3.0 kV
イオン源温度:3.0 kV
イオン源温度:150℃
脱溶媒温度:500℃
コーンガス:N_2 150 L/hr
脱溶媒ガス:N_2 1000 L/hr
コリジョンガス:Ar 0.15 mL/min
コーン電圧:30～40 V
コリジョンエネルギー:15～30 eV
イオン化モード:ESI ポジティブモード
測定モード:SRM

添加回収試験 (0.4 ng/g)

魚試料(マグロ、タラ、アジ及びサバ)の筋肉部を採取した後、細切均一化し各 5.0 g を秤取した。ここに添加回収試験用混合標準溶液 1 mL を添加して 30 分間室温で放置した後、試験溶液を調製し、内部標準法による 5 併行の添加回収試験を実施した。細切均一化した魚介類試料または TD 試料(第 10 群)の各 5.0 g を秤取し、BT 濃度が 0.4 ng/g、安定同位体標識化合物濃度が 4 ng/g となるように添加回収試験用混合標準溶液 1 mL を添加した。30 分間室温で放置した後、試験溶液を調製し、内部標準法による添加回収試験を実施した。魚介類試料は 5 併行の試験を実施した。

試料中の含量の測定

試料各 5.0 g を秤取し、安定同位体標識化合物混合標準溶液 1 mL を添加して 30 分間室温で放置した後、試験溶液を調製して内部標準法により測定した。

(3-3)食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

標準物質

分析対象とした OPFRs の標準溶液は、リン酸トリエチル(TEP)、リン酸トリブチル(TBP)、リン酸トリス(2-クロロエチル)(TCEP)、リン酸トリス(1-クロロ-2-プロパニル)(TCPP)、リン酸トリフェニル(TPhP)、リン酸トリプロピル(TPrP)、リン酸 2-エチルヘキシルジフェニル(EHDPhP)、リン酸トリス(2-メチルフェニル)(ToTP)、リン酸トリス(3-メチルフェニル)(TmTP)、リン酸トリス(4-メチルフェニル)(TpTP)、リン酸トリス(2-ブトキシエチル)(TBEP)、リン酸トリス(3,5-ジメチルフェニル)(T35DMPhP)、リン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル)(TDCPP)、リン酸トリス(2-エチルヘキシル)(TEHP)、リン酸トリス(2-イソプロピルフェニル)(T2iPPhP)、リン酸トリス(3-イソプロピルフェニル)(T3iPPhP)、リン酸トリス(4-イソプロピルフェニル)(T4iPPhP)、リン酸トリス(2,3-ジブロモプロピル)(TDBPP)の非標識(ネイティブ体)18 種類を(株)ウェリントンラボラトリージャパンより購入した。

クリーンアップスパイク標準溶液は、リン酸トリエチル-d_{15} (TEP-d_{15})、リン酸トリブチル-d_{27} (TBP-d_{27})、リン酸トリス(2-クロロエチル)-d_{12} (TCEP-d_{12})、リン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル)-d_{15} (TDCPP-d_{15})、リン酸トリス(2-ブトキシエチル)-$^{13}C_2$ (TBEP-$^{13}C_2$)、リン酸トリフェニル-$^{13}C_{18}$ (TPhP-$^{13}C_{18}$)、リン酸トリプロピル-d_{21} (TPrP-d_{21})を(株)ウェリントンラボラトリージャパンより、リン酸トリス(4-イソプロピルフェニル) -$^{13}C_{18}$ (T4iPPhP-$^{13}C_{18}$)の安定同位体ラベル化体 8 種類を Cambridge Isotope Laboratories, Inc.より購入した。

シリンジスパイク標準溶液は、安定同位体ラベル化体であるリン酸トリフェニル-d_{15} (TPhP-d_{15})を(株)ウェリントンラボラトリージャパンより購入した。

試験溶液の調製

試料は、サーモン、玄米、牛乳、令和 5 年度に福岡県で調製した TD 試料の 1 群(米・米加工品)、12 群(乳・乳製品)とした。試料約 10 g をガ

ラス製の遠沈管に量り採り、クリーンアップスパイクを各 50 ng 添加した後、アセトニトリル 20 mL（玄米試料は蒸留水 10 mL を加えて静置した後、アセトニトリル 20 mL）を加えてホモジナイズ（10,000 rpm, 2 分間）した。1 g の塩化ナトリウムおよび 4 g の硫酸ナトリウム（無水）を加えて塩析、脱水を行った後、遠心分離した（4,000 rpm, 10min）。上澄み液を回収し、約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物をアセトン：シクロヘキサン（2:8）混液 10 mL に溶解し、遠心分離（4,000 rpm,10 分間）して得られた上澄み液を GPC（Gel Permeation Chromatography）に供した。注入後 9～21 分の画分を約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去した。玄米および牛乳試料は、残留物をメタノールに溶解して、シリンジスパイクを各 10 ng 添加した後 10 mL にしたものを LC-MS/MS 測定溶液とした。サーモン試料は、残留物をアセトン：*n*-ヘキサン（1：1）混液 2 mL に溶解し、予めアセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液 10 mL でコンディショニングした PSA 固相ミニカラムに負荷した。アセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液 1 mL で 2 回洗い込みを行った後アセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液 5 mL で溶出した。回収した負荷液および溶出液を窒素気流下乾固後、メタノールで溶解して、シリンジスパイクを各 10 ng 添加した後、10 mL にしたものを LC-MS/MS 測定溶液とした。

ブランク試験は、試料を用いずに試験溶液を調製した。

添加回収試験は試料採取後、ネイティブ体の OPFRs 標準物質を各 200 ng を添加した後、試験溶液を調製した。

PSA 固相カラム精製条件の検討

アセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液でネイティブ体の OPFRs 混合標準溶液（5 ng/mL）を調製し、その 2 mL を予めアセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液 10 mL でコンディショニングした PSA 固相ミニカラムに負荷し、アセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液 5 mL で溶出した（画分 1）。さらに、アセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液 5 mL で溶出した（画分 2）。各画分を窒素気流下乾固し、メタノールに溶解してクリーンアップスパイクを添加し 1 mL にしたものを LC-MS/MS 測定し、各画分の PSA 固相ミニカラムからの回収率を求めた。

サーモン試料を用いて PSA 固相ミニカラム精製における OPFRs の回収率を評価した。GPC 精製後の試験溶液を約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去し、アセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液で調製したネイティブ体の OPFRs 混合標準溶液（50 ng/mL） 2 mL に溶解し、予めアセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液 10 mL でコンディショニングした PSA 固相ミニカラムに負荷した。アセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液 1 mL で 2 回洗い込みを行った後アセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液 5 mL で溶出した。回収した負荷液および溶出液を窒素気流下乾固後、メタノールで溶解してクリーンアップスパイク用の標準物質を各 100 ng 添加後、10 mL にしたものを LC-MS/MS 測定溶液とした。

LC-MS/MS 測定条件

測定条件の詳細は本年度の分担研究報告書「有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究」（食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討）に示した。

（4）母乳のダイオキシン類汚染の実態調査と乳幼児の発達への影響に関する研究

母乳試料

2024 年度に初産婦より、産後 1 か月の母乳の提供を受けダイオキシン類濃度を測定する。生後 1 か月と採取条件を一定とし、経年的な母乳汚染の変化を判断できるように計画している。母乳中ダイオキシン類レベルは、初産婦と経産婦でその分布が異なるため、本研究では原則として初産婦に限定している。母乳採取の際には、同時に母親の年齢、喫煙歴や児の出生時の体格、1 か月時の発育状況などの調査用紙への記入を求めた。本年度は、医療法人成和会山口病院にて計 20 人から参加同意を得、そのうち 19 名から母乳の提供を受けた。

ダイオキシン類分析

ダイオキシン類として、PCDDs7 種類、PCDFs10 種類、Co-PCBs12 種類と、母乳中の脂肪含有量を公益財団法人北九州生活科学センターに委託して測定した。脂肪 1g 当たりの毒性等価量(脂肪重量換算)を pg TEQ/g fat として表記した。実測濃度が LOQs 未満のダイオキシン類は LOQs の 1/2 の濃度として計算した。

母乳中ダイオキシン類の発育発達への影響

1 歳時に郵送にて質問紙票を送付して下記の点について郵送にて回答を依頼した。

・これまでにかかった病気

・1 歳までの発育・発達

運動発達(出来るようになった月例)

首のすわり、寝返り、お座り、つかまり立ち、伝い歩き、一人歩き(2～3 歩)

精神発達(出来るようになった月例)

禁止の理解:「いけません」というと、ちょっと手を引っ込める。

動作の理解:「バイバイ」や「さよなら」に反応する。

指示の理解:「おいで」「ちょうだい」「ねんね」などを 1 つだけでも理解できる。

発語:食物のことを「マンマ」という(他の有意義語でも良い)。

動作模倣:ブラシ、鉛筆などを使うまねをする。

母乳中ダイオキシン類濃度と発育発達への影響については、出生時(生下時)の体重、頭囲、1 歳時の身体発育、運動発達、精神発達との関係について、Pearson の相関係数、重回帰分析を行った。統計ソフトは R (R 4.2.2)を使用した。

(5)国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害物質の調査に関する研究

世界各国の食品安全担当機関やリスク評価担当機関による発表を収集した。学術発表やメディア報道に対応して何らかの発表を行っている場合にはもとになった文献や報道についても可能であれば情報収集した。MOE については評価書から抜き出した数値を表にまとめた。PFAS については時系列を年表にした。なお収集期間は前回報告の 2024 年 4 月以降 2025 年 2 月までである。

(6)原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究

(6-1) ラットを用いたプベルル酸等の毒性試験

ラットを用いたプベルル酸の 28 日間反復経口投与毒性試験

紅麹に由来するいわゆる健康食品による健康被害の原因究明を目的とし、プベルル酸(Puberulic acid(PA); CAS no. 99-23-0)の毒性影響について検討した。6 週齢の雌雄 Crl:CD(SD)ラットに、0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁した PA(国立医薬品食品衛生研究所有機化学部にて合成; Lot no. 20240707、純度 98.5%)を、雄には 0, 1, 3 及び 10 mg/kg、雌には 0, 0.3, 1 及び 3 mg/kg の用量で 28 日間強制経口投与した(各群 5 匹)。投与量は、先行して実施された 7 日間反復経口投与毒性試験の結果に基づいて設定した。対照群及び高用量群については、投与終了時剖検群(主群)に加え、14 日間の回復期間を置く群(回復群)を設定し、毒性影響の回復性を併せて検討した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、尿検査(新鮮尿)、血液学的検査、血清生化学検査、肉眼的病理学検査、器官重量測定及び腎臓を含む全身諸臓器の病理組織学的検査を実施した。

ラットを用いた化合物 Y 及び Z の 7 日間反復経口投与毒性試験

化合物 Y 及び Z (compound 2 and 1, respectively, in J Nat Med. 2024. 78:845-8. doi: 10.1007/s11418-024-01827-w.)の毒性影響について検討するため、6 週齢の雌雄 Crl:CD(SD)ラットに、コーン油に懸濁した化合物 Y(Axcelead Drug Discovery Partners; Lot no. N01414-28-001、純度 99%)及び Z(同; Lot no. N01414-24-001、純度 96.1%)をそれぞれ 0.17 mg/kg、0.25 mg/kg の用量で 7 日間強制経口投与した(各群 5 匹)。投与量は、健康被害の原因とされる当該

健康食品の1日当たり摂取量の100倍をヒトが摂取した際の、化合物Y及びZの推定摂取量として設定した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、尿検査(新鮮尿及び蓄尿)、血液学的検査、血清生化学検査、肉眼的病理学検査、器官重量測定及び腎臓を含む全身諸臓器の病理組織学的検査を実施した。

(6-2)プベルル酸の遺伝毒性試験

プベルル酸の細菌を用いる復帰突然変異試験(Ames 試験)

PA(国立医薬品食品衛生研究所　有機化学部にて合成:Lot no. 20240529、純度98.78%)の遺伝子突然変異誘発能の有無を明らかにするため、ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium*(以下、*S. typhimurium* と略す)TA100、TA1535、TA98、TA1537 及び大腸菌 *Escherichia coli*(以下、*E. coli* と略す)WP2 *uvrA* を用いて、代謝活性化する場合及び代謝活性化しない場合の条件下で、プレインキュベーション法により実施した。なお、被験物質の溶媒にはジメチルスルホキシド(DMSO)を用いた。本試験の実施においては、下記二つのガイドラインを参考とし、外部委託によって医薬品開発業務受託機関(CRO)が実施した。

・「新規化学物質等に係る試験の方法について」(平成23年3月31日:薬食発0331第7号、平成23・03・29製局第5号、環保企発第110331009号)

・「OECD Guideline for Testing of Chemicals 471: Bacterial Reverse Mutation Test」(OECD:2020年6月26日)

である。

プベルル酸の遺伝子改変げっ歯類(MutaMouse)を用いた遺伝突然変異試験(TGR試験)

PA の生体における遺伝子突然変異誘発能の有無について検討するため、遺伝子改変げっ歯類(MutaMouse)を用い、標的器官におけるレポーター遺伝子(lacZ)に対する遺伝子突然変異誘発性を検討した。被験物質(国立医薬品食品衛生研究所　有機化学部にて合成:Lot no. 20240904、純度98.5%)の溶媒には0.5 w/v%メチルセルロース水溶液を用いた。用量設定試験にはMutaMouseの親動物であるCD2F1マウスを使用した。本試験の試験用量を設定するため、100 mg/kg/dayを最高用量とし、公比約3で除した30.0, 10.0および3.00 mg/kg/dayの計4用量を設定し、CD2F1 マウスの雌雄に、1 日 1回、14日間反復強制経口投与した。

用量設定試験結果から顕著な性差は認められなかったものの既存の試験結果において、腎毒性に明確な性差が確認されていた。そのため本試験においては雌のみを使用することとし、用量設定試験結果から最大耐量付近と考えられる5.00 mg/kg/day を最高用量として以下、2.50、1.25および0.625 mg/kg/dayの計4用量を設定した。各群雌6匹(2.50 mg/kg/day群のみ8匹)に1日1回、28日間連続強制経口投与した。1.25, 2.50および5.00 mg/kg/dayの3用量の腺胃および腎臓について, lacZ assayにより遺伝子突然変異体頻度を算出した。

本試験の実施においては、下記二つのガイドラインを参考とし、外部委託によって CRO が実施した。

・「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」(平成23年3月31日付け、薬食発0331第8号厚生労働省医薬食品局長、平成23・03・29製局第6号経済産業省製造産業局長、環保企発第110331010号環境省総合環境政策局長通知)

・OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 488 (30 June 2022: Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays)

(7)紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究

(7-1)プベルル酸産生菌の性状及び紅麹製品への混入メカニズムの解析

***P. adametzioides* の代謝物の解析**

P. adametzioides 11-1株を米培地で培養し、

その酢酸エチル抽出物を C18 カートリッジで分画した。主要代謝物を含む画分を分取 HPLC に供し、得られた化合物について、精密質量解析と NMR 解析を行った。

共培養試験

紅麹米の生産工程を踏まえ、*P. adametzioides* の混入経路として、前培養開始時、本培養開始時、本培養中、本培養後の 4 つを想定した。それぞれの経路を反映した 4 つのモデルを用いて *M. pilosus* と *P. adametzioides* の共培養試験を行った。各試験において、100 cfu の *P. adametzioides* を混入のモデルとし、前培養液用の液体米粉培地、本培養用の米培地、及び紅麹米に接種し、両かびの生育を観察した。

(7-2)化合物 Y 及び化合物 Z の立体構造解明

試料、試薬及び試料調製

健康被害を生じた健康食品から単離精製した化合物 Y 及び化合物 Z を、それぞれ化合物 Y 単離物(0.80 mg)、化合物 Z 単離物(2.77 mg)として用いた。化合物 Y 合成物(13.4 mg)及び化合物 Z 合成物(3.5 mg)は、アクセリード株式会社が化学合成したものを購入し用いた。Lovastatin 及び lovastatin acid は当該健康食品の製造元から入手した。その他の溶媒や容器はそれぞれ適切なものを購入し用いた。化合物 Y 単離物、化合物 Y 合成物、化合物 Z 単離物、化合物 Z 合成物、そして lovastatin 及び lovastatin acid について、それぞれ適切に試料調製を行い、UHPLC/HRMS 及び NMR 分析に供した。また、テクモフ株式会社に依頼し、化合物 Y、Z 単離物及び化合物 Y、Z 合成物の 4 検体について、スポンジ結晶法を利用した X 線構造解析に供した。

C. 結果及び考察

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

(1-1) 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

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一日摂取量は、平均 20.33(範囲 7.92～38.53)pg TEQ/person/day と推定された。体重あたりの摂取量は平均 0.41(範囲:0.16～0.77)pg TEQ/kg bw/day であった。平均値は日本のダイオキシン類の TDI(4 pg TEQ/kg bw/day)の約 10%であり、最大値は TDI の 19%程度に相当した。昨年度は平均 0.40(範囲:0.12～0.79)pg TEQ/kg bw/day であり、今年度の平均値は昨年度の平均値とほぼ同じ値であった。

ダイオキシン類摂取量に対する寄与率が高い食品群は、10 群(魚介類)88.9%、11 群(肉・卵類)10.0%であり、これら 2 つの食品群で全体の 98.9%を占めた。この傾向は昨年度の調査と同様の傾向であった。また、ダイオキシン類摂取量に占める Co-PCBs の割合は、64%であった。一昨年度及び昨年度における割合は共に 67%及び 69%であり、ほぼ 7 割を推移している。

本研究では、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。今年度は、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 1.4～2.4 倍の開きがあった。3 セットの試料は、同一機関(地域)において、種類、産地、メーカー等が異なる食品を使用して調製していることから、10 群及び 11 群に含まれる食品のダイオキシン類濃度は広い範囲に分布していることが推察された。1 セットの TD 試料に含めることが可能な食品の数は限られているため、本研究のように 10 群や 11 群の試料数を多くして広範囲な食品を含めることが、信頼性の高いダイオキシン類摂取量の平均値の推定には有用であると考えられる。

ダイオキシン類摂取量の経年変化

平成 10(1998)年度以降の調査で得られたダイオキシン類摂取量(全国平均値)の経年変化を解析した。全食品群からの合計値の他、ダイオキシン類摂取量に大きな割合を占めた 10 群と 11

群からの摂取量についてもあわせて示した。ダイオキシン類摂取量の合計値は、1998 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る。本年度（2024 年度）の全国平均値は 0.41 pg TEQ/kg bw/day であり、1998 年度以降の調査結果の中で 3 番目に低い値であった。また、調査開始時の 1998 年度の摂取量は 1.75 pg TEQ/kg bw/day であり、これと比較すると本年度の平均値は 23%程度であった。同様に、10 群からの摂取量も、調査期間内で緩やかな減少を示していた。一方、11 群からの摂取量は、2006 年度までに大きく減少し、その後は低い値でほぼ一定となっていた。このように、ダイオキシン類摂取量の減少には、2006 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、2006 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。

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、1999 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。ダイオキシン類摂取量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、10 群の食品摂取量は近年ゆるやかな減少を示しており、今年度の 10 群の食品摂取量は 1998 年と比較して約 65%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。

国内外のダイオキシン類摂取量調査との比較

過去 15 年間に実施された日本と主な諸外国の TD 調査の結果を比較した。日本国内では本調査の他に、東京都が実施しているダイオキシン類摂取量調査の報告がある。東京都の令和 4 年度（2022 年度）のダイオキシン類摂取量は 0.44 pg TEQ/kg bw/day と報告されており、本調査結果と近い値であった。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、本調査のダイオキシン類摂取量は諸外国で報告されているダイオキシン類摂取量と比較し、特に高いことはなかった。

新しい TEFs を使用したダイオキシン類摂取量との比較

最近公表された新しい TEFs（2022 WHO-TEFs）を用いて、平成 10（1998）年度以降のダイオキシン類摂取量（全国平均値）を再計算し、その結果を現行の TEFs を使用した場合と比較した。新しい TEFs で算出した摂取量は、いずれの年度においても現行の TEFs で算出した摂取量よりも小さくなり、平均すると 6 割程度の値となった。TD 試料中の TEQ 濃度に占める割合が高い異性体である PCB 126 は、新しい TEFs において現行の 1/2 となっていることから、このことが減少に大きく影響したものと考えられる。

(1-2)トータルダイエット試料の分析によるポリ塩化ビフェニル摂取量推定

PCBs 摂取量の推定

全 10 地域で調製した TD 試料（10 群及び 11 群）の分析結果から推定した。10 群からの総 PCBs 摂取量は 132～393 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 238 ng/person/day であった。また、11 群からの総 PCBs 摂取量は 4.4～43 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 13 ng/person/day であった。昨年度の 10 群からの総 PCBs 摂取量の全国平均値は 256 ng/person/day、11 群からの総 PCBs 摂取量の全国平均値は 13 ng/person/day であった。昨年度と比較すると、今年度の 10 群の総 PCBs 摂取量の全国平均値はやや低かったが、11 群の総 PCBs 摂取量の全国平均値は同程度であった。

10 群と 11 群からの総 PCBs 摂取量は 141～398 ng/person/day の範囲で推定され、全国平

均値は 250 ng/person/day であった。昨年度の総 PCBs 摂取量の全国平均値は 270 ng/person/day であり、今年度の総 PCBs 摂取量は昨年度と比較してやや低い値であった。現在、日本では PCBs に暫定一日摂取許容量(5 μg/kg bw/day)が示されている。本研究で推定された総 PCBs 摂取量の全国平均値は 250 ng/person/day であり、体重(50 kg と仮定)あたりでは 5.0 ng/kg bw/day であった。この値は暫定一日許容量の僅か 0.1%程度であった。一見すると総 PCBs の摂取量は十分に小さいと考えられるが、暫定一日許容量は 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 等の健康影響に基づく指標値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%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留意が必要である。

本年度までの総 PCBs 摂取量の全国平均値の経年推移を解析した。総 PCBs 摂取量は 1990 年代前半までに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 年代前半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。本年度の総 PCBs 摂取量の全国平均値は、調査開始以来、2 番目に低い値であった。調査開始時の総 PCBs 摂取量と比較すると、本年度の総 PCBs 摂取量は 1/13 程度であった。

非ダイオキシン様 PCBs (NDL-PCBs)摂取量の推定

各地域の TD 試料の分析結果より NDL-PCBs 摂取量を推定した。また、NDL-PCBs 摂取量の指標異性体として欧州等で使用されている 6 PCBs の摂取量についてもあわせて推定した。10 群からの NDL-PCBs 摂取量は 120～357 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 219 ng/person/day であった。11 群からの NDL-PCBs 摂取量は 3.9～37 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 11 ng/person/day であった。また、10 群と 11 群からの摂取量を合計した NDL-PCBs 摂取量は、129～361 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 230 ng/person/day(体重 50 kg で除した場合、4.6 ng/kg bw/day)であった。10 群と 11 群からの総 PCBs 摂取量の全国平均値は 250 ng/person/day であることから、NDL-PCBs は総 PCBs 摂取量の 92%程度を占めていた。この傾向は昨年度の調査結果と同様であった。

NDL-PCBs の指標異性体として用いられる 6PCBs の 10 群からの摂取量は 40～125 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 75 ng/person/day であった。11 群からの摂取量は 1.5～18 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 4.8 ng/person/day であった。また、10 群と 11 群からの摂取量を合計した 6PCBs 摂取量は、44～126 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 80 ng/person/day(体重 50 kg で除した場合、1.6 ng/kg bw/day)であった。

NDL-PCBs については TDI 等の健康影響に基づく指標値が定まっていないため、代表的な NDL-PCBs 異性体(PCB 28, 52, 128, 153, 180)の毒性データを用いて、MOE を計算した。MOE の計算は、各異性体の最小毒性量(minimal effect dose)を、各異性体の摂取量(全国平均

値）で除した。各異性体の MOE は 10,672～764,062 であった。NDL-PCBs は非遺伝毒性発がん物質と考えられるため、一般的には MOE が 100 以上であれば健康への懸念が低くリスク管理の優先度が低いと考えられる。いずれの異性体の MOE も 100 を大きく上回っていた。

国内外の PCBs 摂取量調査との比較

日本と主な諸外国で実施された PCBs 摂取量調査の結果をまとめた。日本国内では本調査の他に、東京都が実施している PCBs 摂取量調査の報告がある。東京都の 2023 年の PCBs 摂取量は 5.2 ng/kg bw/day と報告されており、本調査の結果と近い値であった。諸外国の調査結果と比較すると、本研究の結果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、日本と主な諸外国の調査結果をまとめた。日本の 6PCBs 摂取量は 1.6 ng/kg bw/day であり、諸外国で報告されている 6PCBs 摂取量の範囲内であった。

(1-3) トータルダイエット試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定

(1-3-1) 食品中の有機フッ素化合物分析法の基礎検討

固相抽出カラムの検討結果

標準品溶液を用いて溶出工程における溶媒の検討を行った。アセトニトリル、メタノール、0.5%トリエチルアミン含有アセトニトリル及び 0.5%アンモニア水含有アセトニトリルを検討した結果、いずれもアセトニトリルあるいはアセトニトリル含有溶液において、40%以上の絶対回収率が得られた。一方で、特に PFODA や PFHxDA において、著しい吸着効果からか回収率が十分に確保できない傾向が認められた。これらの回収率の低下は、溶出液量を増やしても改善は認められなかった。そのため、今回の検討では溶出液として 0.5%TEA 含有アセトニトリル溶液を選択した。続いて 4 種の食品における回収率を検討した。PFDA、PFUdA、PFDoA、PFTeDA、PFDS 及び PFDoS では内標準法に従った回収率が目標値（65～135%）を満たしており、摂取量調査への適用が期待できた。一方で、PFTrDA、PFHxDA 及び PFODA では内標準法による回収率は目標値から外れていた。これらの PFAS については類似する I.S.が混合液に含まれておらず、前処理における挙動あるいは質量分析における絶対的な応答が I.S.と異なるためであると考えられる。また、絶対検量線法に基づく回収率に関して、特に PFHxDA 及び PFODA で 10%を切る場合があった。これら 2 種を含めて長鎖 PFAS の中でも特に鎖長の長いものに関しては、溶出溶媒量を増やしても回収率が改善しなかったことから、固相担体への非特異的吸着が原因で回収率が低下した可能性が考えられた。そこで次に、固相カラムを用いない前処理法として、近年報告された液液分散マイクロ抽出法の適用を考えた。

液液分散マイクロ抽出の検討結果

液液分散マイクロ抽出法を用いた PFAS の分析として、2021 年に Fernando らが Talanta 誌に報告している。本報告では、胎盤組織中の 10 種 PFAS の良好な分析（回収率が 88.2～113.9%）に成功しており、固相抽出に代わる簡便な前処理方法として期待ができる。今回、予備的な検討として、経験的に回収率の低下や試料マトリックスによる影響を受けやすいと考えられる牛肉を用いて、添加回収試験を実施した。食品抽出液を得た後の操作は極めて迅速であり、合計 1 時間程度で処理が完了する。内標準法と絶対検量線法に従う回収率を算出した。内標準法において、全ての対象で目標とした回収率（65～135%）を満たしており、絶対検量線法においても全種で平均回収率 45%以上を達成した。従って、固相抽出カラムを用いた方法で認められた回収率の低下が改善しているものと考えられた。一方で、溶出位置の近い PFTrDA, PFTeDA 及び PFDS において、目標値を上回っていたものの、絶対回収率の低下が認められた。鎖長に相関性は無いため、これらの PFAS と共溶出している夾

雑成分によるマトリックスの影響が考えられる。そのため、これらの影響を完全に排除するためには、LC カラムの変更や追加の精製操作等が必要となるものと考えられる。

(1-3-2)トータルダイエット試料中の有機フッ素化合物の分析及びその摂取量推定

PFAS 摂取量の推定

2022 及び 2023 年度に、それぞれ 2 地域において調製した TD 試料（2022-03、2022-04、2023-03 及び 2023-04）を分析し、各試料における PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の含有量を求めた。各分子種の含有量は、いずれも酸として示した。8 群における PFOS 及び 10 群における PFHxS については、定量イオンに LOQ と同程度又は LOQ を大きく上回る夾雑物のピークが認められたことから、前年度と同様に定性イオンを用いて定量を行った。

PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA について、いずれの TD 試料においても、IS 回収率は PFOS では 50～109%、PFOA では 50～105%、PFHxS では 78～108%及び PFNA では 49～113%を示し、EU のガイドラインにおける目標値（30～140%）を満たした。また、LOQ を上回る値を示した試料のうち、2022-03 の 11 群中の PFOS を除く全ての試料においてイオン比は PFOS では 96～119%、PFOA では 92～99%、PFHxS では 100～105%及び PFNA では 99～103%を示し、EU のガイドラインにおける目標値（70～130%）を満たした。一方、2022-03 の 11 群中の PFOS についてのみ、イオン比は 68%と目標値を満たさなかったため、当該分析値は参考値とした。

分析結果をもとに推定した各分子種の摂取量（LB～UB）は、PFOS では 11～262 ng/day、PFOA では 1.3～56 ng/day、PFHxS では 0～22 ng/day、PFNA では 3.2～98 ng/day であった。日本人の平均体重を 50 kg と仮定して体重あたりの摂取量に換算すると、PFOS では 0.23～5.2 ng/kg bw/day、PFOA では 0.025～1.1 ng/kg bw/day、PFHxS では 0～0.44 ng/kg bw/day 及び PFNA では 0.063～2.0 ng/kg bw/day と推定された。PFOS 及び PFOA の推定摂取量は TDI（20 ng/kg bw/day）の 1.1～26%及び 0.13～5.6%に相当し、昨年度の結果と同様に、両分子種の摂取量は TDI を下回ることが示された。また、各分子種の総摂取量に対する各群の寄与率を求めた結果、LB を用いた場合の 10 群の寄与率は、PFOS では 78.1～99.5%、PFOA では 100.0%、PFHxS では 100.0%及び PFNA では 100.0%を示したことから、PFAS の主な摂取源は 10 群であることが示唆された。

国内外の PFAS 摂取量調査との比較

推定された各分子種の摂取量について、先行調査との比較を行った。農林水産省が実施したマーケットバスケット方式によるトータルダイエットスタディ（2012～2014 年度）では、体重あたりの平均摂取量（LB～UB）は、PFOS について 0.60～1.1 ng/kg bw/day、PFOA について 0.066～0.75 ng/kg bw/day と推定されており、本研究の 2022-04、2023-03 及び 2023-04 から推定された PFOS 及び PFOA 摂取量（0.23～1.6 ng/kg bw/day 及び 0.025～0.59 ng/kg bw/day、LB～UB）は、農林水産省の推定値と類似した値を示した。一方、2022-03 から推定された摂取量は、農林水産省が UB を用いて推定した摂取量に対して高値を示したが、これは前述の通り、当該試料に PFAS を高含有に有する食品が偶発的に含まれていたことに起因すると考えられた。

また、EU の調査では、成人（18 歳以上 65 歳未満）の平均摂取量群における各分子種の推定摂取量（LB～UB）は、PFOS では 0.29～5.94 ng/kg bw/day、PFOA では 0.13～5.71 ng/kg bw/day、PFHxS では 0.06～5.06 ng/kg bw/day 及び PFNA では 0.02～5.25 ng/kg bw/day と報告されており、本研究において推定された各分子種の摂取量は、いずれも EU が示した推定摂取量の UB 未満の値を示した。このことから、我が国における PFAS の摂取量について、現時点で諸外国に比較して著しく高値を示す可能性は低いと考えられた。

(1-4)乳幼児の一食分試料を用いたダイオキシン類摂取量調査

乳児及び幼児の一食分試料(昼食、各 32 試料)からのダイオキシン類摂取量のヒストグラムを作成すると、摂取量が高い方に裾を引いた分布となった。両者のヒストグラムを比較すると、乳児の一食分試料からのダイオキシン類摂取量は、幼児と比較すると低い方に分布していた。乳児の一食分試料では水分含量が多い献立である 5 倍がゆや汁物等、一般的にダイオキシン類濃度が低い食品を含むために、一食分試料からのダイオキシン類摂取量が全体的に低くなったものと考えられた。また、一食あたりのダイオキシン類摂取量が 10 pg TEQ/食を超えた試料は、乳児では 1 試料のみであったが、幼児では 5 試料あった。これらの試料はいずれも魚が食材に含まれていた。ダイオキシン類摂取量が 10 pg TEQ/食を超えた上記の一食分試料については、いずれも魚の食材が含まれる“その他”からのダイオキシン類摂取量が多く、全体に占める割合が比較的高くなっていた(88%以上)。乳児の試料ではメカジキ、幼児の試料ではブリ、サワラ、ムキガレイ、サバ、サケが含まれており、これらの食材のダイオキシン類濃度が比較的高かったことが推察される。

一食分試料からのダイオキシン類摂取量の統計量を計算した。乳児の一食分試料からのダイオキシン類摂取量は、平均値が 1.2 pg TEQ/食、中央値が 0.24 pg TEQ/食、範囲が 0.042～15 pg TEQ/食であった。幼児の一食分試料からのダイオキシン類摂取量は、平均値が 5.7 pg TEQ/食、中央値が 1.2 pg TEQ/食、範囲が 0.011～78 pg TEQ/食であった。幼児のダイオキシン類摂取量の平均値は乳児と比較すると 5 倍程度高かった。体重あたりの摂取量については、乳児の平均体重は 8.64 kg、幼児の平均体重は 10.1 kg を用いて算出した。一食あたりのダイオキシン類摂取量の平均値は、乳児で 0.13 pg TEQ/kg bw/食、幼児で 0.56 pg TEQ/kg bw/食となり、日本の TDI(4 pg TEQ/kg bw/day)に占める割合は、乳児で 3%程度、幼児で 14%程度であった。今回は昼食のみを調査対象としていることから、朝食や夕食を含めた一日あたりの摂取量を推定することは難しいものの、今回の献立に基づいた一食分試料を一日に 3 回喫食したと仮定した場合の平均的なダイオキシン類摂取量についても TDI を下回ると考えられた。一方で、乳児で最大の摂取量となった試料、及び幼児の 4 試料については、一日に 3 回喫食したと仮定すると、TDI を超過する。ダイオキシン類摂取量を低減する観点からも、特定の種類や産地の食品を過度に摂取するのではなく、多様な食品を含むバランスの良い食生活を送ることが重要であると考えられる。

(2)食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

各元素類の全国・全年齢層平均ばく露量の推定

本年度に調製した全 14 群の TD 試料の分析を通じ、42 元素 (B、Al、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ge、As、Se、Rb、Sr、Zr、Mo、Cd、Sn、Sb、Cs、Ba、La、Ce、Pr、Nd、 Sm、Eu、Gd、Tb、Dy、Ho、Er、Tm、Yb、Lu、W、Hg、Tl、Pb、U) および化学種 (iAs, MMAs, DMAs, AsB, MeHg) について 10 地域の平均値として推定一日摂取量を算出した。V、Cr、Ge、Sn、希土類元素、Pb 以外の元素では地域ブロック間の変動は小さかった。

食品群ごとの寄与率

As の摂取量における寄与率は、これまでの報告と同様に、10 群で 56.8%、次いで 8 群で 32.2%と大きかった。10 群の魚介類においては、ヒ素は毒性の低い AsB として存在していた。一方で、iAs では 1 群の寄与率は 68.2%、8 群の寄与率は 8.78%であった。Cd の摂取量における寄与率は、これまでの報告と同様に、1 群で 34.2%、次いで 8 群の 16.5%と大きかった。Hg の摂取量における寄与率は、これまでの報告と同様に、10 群の魚介類で多く 90.0%であった。10 群では 74.4%が毒性の高いメチル水銀として存在していた。Pb の摂

取量における寄与率は、9 群で最も高く 22.5%、次いで 8 群で 18.2%であった。2024 年度の調査から追加した元素である Tl は 8 群の寄与率が 40.1%と最も高かく、次いで 7 群で 18.0%であった。

Health-based guidance value との比較

各元素の Health-based guidance value (HBGV) を種々の公的機関のデータベースから参照し、推定した一日摂取量と比較からハザード比 (HQ) を算出した。

HQ が最も高かったのは iAs であり、1.28 - 1.80 であった。一方で、JECFA が導出した $BMDL_{0.5}$ (3.0 μg/kg/day)との比較は MOE として評価したところ、MOE は 7.8 となった。不確実係数としては、個人差として 10、摂取量推定の不確実性として 4 を用いたところ、推定した MOE は不確実係数積 (UFs) よりも小さい値となった。現在のところ、食品安全委員会では HBGV を設定するためには、国内の摂取実態及び食事由来のヒ素摂取を明らかにした上で摂取量を評価する必要があるとしている。iAs の食事性摂取による健康リスクが高い可能性があるものの正確な評価については、iAs 摂取量だけでなく栄養状態と代謝酵素に係る遺伝的変異を踏まえた疫学調査が必要と考えられる。

2 番目に HQ が最も高かったのは Ni であり、その値は 0.14 - 1.00 であった。EPA が 1991 年に導出した RfD は、食品安全委員会が 2012 年に導出した TDI や EFSA が 2015 年に導出した TDI よりも 5 倍以上高い値となっており、このような HQ が広い結果となった。

3 番目に HQ が最も高かったのは Mo であり、その値は 0.80 であった。US EPA が 1992 年に導出した RfD (5.0 μg/kg/day) は、尿酸値の上昇をエンドポイントとして横断的疫学研究から導出された値である。疫学調査の対象となった地域は、土壌と植物の Mo 含有量が高く、Cu の含有量が低いことという理由から選択された。Mo と Cu は拮抗作用があることが報告されており、日本人の平均的な Cu 摂取量からすると、安全側のリスク評価となっている可能性が示唆された。

毒性の高い元素である Cd 及び MeHg の HQ はそれぞれ、0.24 - 0.68 及び 0.24 - 0.36 の範囲であり、今後とも食品を介した摂取量の変動に注視する必要があると考えられた。

Pb に関しては、BMDL と比較するため、MOE による検討を行った。ただし、本研究で推定した摂取量は成人も含めたものであるため、幼児に特有の影響である発達神経毒性についての解析は、摂取カロリーを基に 0.688 倍 (1 - 6 歳: 1,047 kcal、1 歳以上: 1,522 kcal) し、1 - 6 歳の摂取量を推定して算出した。その結果、MOE は 2.8 - 20.8 の範囲内であった。EFSA の評価書では、鉛摂取の MOE が 1 でも健康リスクはほとんどないと考えられている。これらのことから、平均的な摂取量としての健康リスクは小さいと考えられた。

今年度から追加した Tl に関しては、US EPA により導出された HBGV は candidate RfD であったことから、MOE による検討を行った。POD として、毛包萎縮の NOAEL (40 μg/kg/day) および臨床所見の $BMDL_{10}$ (10 μg/kg/day) を用いたところ、MOE は 341 - 1363 と推定された。UFs は 3000 とされたことから、MOE は UFs よりも小さく、健康リスクが懸念された。ただし、UFs が大きいことを考慮する必要がある。

経年変動

As の推定一日摂取量は、調査開始以降減少傾向にあったが、2007 年以降増加傾向に転じていた。国民健康・栄養調査のデータベースと比較すると As の寄与率が高い 10 群の喫食量は減少していて、8 群に含まれる海藻類の喫食量はほぼ一定の量を示している。これらのことから、食品中の As 濃度が増加している可能性がある。摂取量だけでなく、食品中濃度および変動を与える要因について注視する必要があるだろう。

毒性の高い iAs については、2014 年からのデータしか無く中長期での変動傾向を判断するのは難しいが、2014 年度以降における変動をふまえてその傾向を判断すると、ほぼ一定の摂取量

で推移しているといえた。時系列解析を行うだけの十分なデータ数をそろえるためにも、継続的な調査が必要だろう。

Cdは1977年の調査開始以来、摂取量は減少してきており、2013年以降は摂取量のばらつきが小さくなってきた。1977 年の摂取量と比較すると半分以下まで減少していた。

Hgの推定一日摂取量は1977－1978年を除くと 5-12 μg/person/day の間を推移していたが、時系列解析の結果、少しずつ減少している傾向にあることが示された。

Pb の推定一日摂取量は 1977 年の調査以降継続して減少傾向にある。2024 年の推定一日摂取量は1977年の5%以下まで減少していた。

米由来の無機ヒ素の地域ブロック別・年齢層別摂取量推定

令和5年度入手した精米試料を、小栗ら(DOI: 10.1265/jjh.69.177）の方法を参考にして炊飯したものを試料とした。試料は令和4年度に開発した簡易分析法を用いた。各都道府県の平均濃度を算出した後、地域ブロックごとに生産量と米自給率で重み付けして摂取量推定に用いる濃度を算出した。2017年から2019年に行われた国民健康・栄養調査のデータを用いて、各地域ブロックの喫食量を年代別に算出し、米および米加工品の体重当たり喫食量の平均値を算出した。推定摂取量が最も低かったのは地域ブロック 1 における60-79歳の0.13 μg/kg/dayであり、最も高かったのは地域ブロック3における1-6歳の0.63 μg/kg-bw/day であった。最大と最小の比は年代によって1.83（20-59歳）- 2.14（7-19歳）と幅が認められた。

米・米加工品からの iAs 摂取量への寄与は約 70%と推定されている。この寄与率と US EPA が導出した RfD（0.3 μg/kg/day）より、米由来の摂取量が 0.21 μg/kg/day 以下であることが望ましいと考えられる。しかしながら、70%の地域ブロック/年齢群でこの値を超過していた。

幼児を対象とした鉛の確率論的摂取評価

健康リスクの高い幼児を対象として確率論的な摂取量推定を行った。対象とした有害元素は、幼児に特有の健康影響（発達神経毒性）が認められるPbとした。

2D-MCS を用いた一日推定摂取量の平均値は 0.181 ± 0.044 μg/kg-bw/day と推定された。2024 年の TD 研究における、ND に 0 あるいは LOQ 代入し摂取カロリーで補正した推定摂取量は、0.149 及び 0.214 μg/kg-bw/day であり、2D-MCS で推定した平均値はこれらの範囲内あった。2D-MCS を用いて推定した Pb 摂取量の 5、25、50、75、及び 95 パーセンタイル値は、それぞれ 0.076、0.115、0.154、0.209、0.346 μg/kg/day であった。

2D-MCS の結果、MOE の平均値は 2.71 ± 0.34と推定された。2024年のTD研究において、NDに0あるいはLOQ代入し、摂取カロリーで補正して推定した MOE は、3.3 及び 2.3 であり、2D-MCS による推定した平均値はこれらの範囲内であった。また、2D-MCS を用いて推定した MOE の 5 及び 95 パーセンタイル値は、それぞれ、2.18 及び 3.20 であった。また、MOE が安全係数積である 1 を下回る確率は 0.3%と推定された。

喫食量算出法の違いが摂取量推定に与える影響

全国民の平均的な摂取量を求めるという目的からすると、国民健康・栄養調査の標本の年齢・地域構成が、国民の年齢・地域構成と齟齬が無ければ、年齢層や地域によって体重当たりの喫食量が異なる点は問題とならない。そこで、国民健康・栄養調査の標本（2017 - 2019 年の総和）と人口推計（e-Stat のデータを利用、2017 - 2019年の平均値）のデータを比較したところ、国民健康・栄養調査の標本が必ずしも年齢構成と人口分布を反映しているとは言えなかった。この点を踏まえると、全国民を対象とした平均的な摂取量を精緻に推定するには、年齢構成や地域ブロック別人口による重み付けを行う必要があると考えられた。

そこで、体重当たり喫食量（r、g/kg/day）に

ついて、算出方法の違いの影響を検討するために、以下の 2 種類の重み付け法について検討した。

1 つ目の重み付けの方法として、年齢構成による重み付けをした、地域ブロック j における食品群 i の体重当たり喫食量 ${}^{w1}R_{i,j}$ を次のように算出した（重み付け法 a)。

$$ {}^{w1}R_{i,j} = \sum_{k=1}^{K} w_{j,k} r_{i,j,k}, $$

ここで、$w_{j,k}$は地域ブロック j における年齢層 k の重み付け係数を、$r_{i,j,k}$ は地域ブロック j における年齢層 k の食品群 i の体重当たり食品消費量（g/kg/day）を示す。なお、都道府県別の人口推計は 5 歳階級毎の値が提供されているのみである。そこで、2017 - 2019 年における人口推計の平均値を用い、各階級の値を 5 等分し各年齢の人口推計として算出し、$w_{j,k}$ を算出した。

2 つ目の重み付け法として、多くの HBGV が「毎日一生涯にわたって摂取しても健康に悪影響がないと判断される量」であることを考慮して、各年齢層での摂取期間を考慮した体重当たり喫食量 ${}^{w2}R_{i,j}$ を次のように算出した（重み付け法 b)。

$$ {}^{w2}R_{i,j} = \frac{\sum_{k=1}^{K} d_k r_{i,j,k}}{D}, $$

ここで、D は生涯の摂取期間を示し 1 - 80 歳の 79 年とした。d_k は年齢層k における摂取期間（年）を示し、d_1: 6、d_2: 13、d_3: 40、d_4: 20、d_5: 0 とした。この重み付け法では、d_k/D が重み付け係数に相当する。

これまで全国平均としての推定摂取量の算出する際には、下記の通り、M地域ブロックの平均値を算出する方法が用いられてきた（方法 1)。

$$ {}^{M1}E_{\text{all}} = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^{M} E_j, $$

この方法は、地域ブロックの人口を考慮していない点が問題となる可能性がある。そこで、以下で示した式のように、各地域の摂取量を人口で重み付けする方法が考えられる（方法 2)。

$$ {}^{M2}E_{\text{all}} = \sum_{j=1}^{M} W_j E_j, $$

ここで、W_j は地域ブロック j における人口による重み付け係数を示し、各地域ブロックで次の値を用いた; A: 0.052, B: 0.052, C: 0.219, D: 0.145, E: 0.149, F: 0.037, G: 0.168, H: 0.037, I: 0.084, J: 0.059。

ただし、この算出方法では、人口が多い地域ブロックで偶発的に摂取量が高く推定された場合に、その影響が全国平均に強く反映される可能性がある。そこで、このような影響を軽減するために、体重当たり喫食量及び化学物質濃度の全国平均値を用いる方法も考えられる（方法 3)。

$$ {}^{M3}E_{\text{all}} = \sum_{i=1}^{N} \bar{R_i} \bar{C_i}, $$

ここで、$\bar{R_i}$ は食品群 i の全国平均としての消費量（g/kg/day）を、$\bar{C_i}$ は食品群 i の全国平均としての濃度（μg/g）を示し、それぞれ次のように算出した。

$$ \bar{R_i} = \sum_{j=1}^{M} W_j R_{i,j}, \bar{C_i} = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^{M} C_{i,j} $$

その際、$R_{i,j}$ には ${}^{w1}R_{i,j}$ または ${}^{w2}R_{i,j}$ を用いた。

${}^{M3}E_{\text{all}}$と同様に、${}^{M1}E_{\text{all}}$ 及び ${}^{M2}E_{\text{all}}$ についても、体重当たり喫食量に${}^{w1}R_{i,j}$ または ${}^{w2}R_{i,j}$ を用いた摂取量を算出した。したがって、重み付けのない推定摂取量（${}^{w0}E_{\text{all}}$）を合わせて、計 7 通りの算出方法を比較した。

2024 年に実施した TD 試料を用いた iAs, Cd, Hg, 及び Pb の推定摂取量について、算出方法による違いを比較した結果、喫食量に関する重み付け法において、${}^{w0}E_{\text{all}}$に対する比を比較したところ、重み付け法 b (0.94 – 1.29) よりも、重

み付け法 a (1.01 – 1.09) を用いた方が、$^{w0}E_{all}$と近い推定値となる傾向があった。摂取量の全国平均値に関する計算方法として、$^{w0}E_{all}$に対する比を比較したところ、方法 3 (1.01 – 1.11)、方法 2 (0.95 – 1.27)、方法 1 (0.94 – 1.29) の順に$^{w0}E_{all}$と近い推定値となる傾向にあった。方法 3 は、全体的にはこれまでの算出方法との齟齬が小さかったが、重み付け法 b と方法 3 を用いた iAs の推定摂取量 (算出用 b3) は検討した方法の中で最大の値を示した。以上の結果から、方法 3 が必ずしもこれまでの推定結果との齟齬が小さくなるとは結論できなかった。なお、喫食量算出における重み付け法 a と b では、摂取量評価の目的が異なるため、本研究班における目的について整理する必要があると考えられた。

(3)有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1)GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

(3-1-1)EI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

GC-MS/MS 測定条件の改良

昨年度の検討において、GC-MS/MS によるダイオキシン類分析の性能評価は良好であったものの、検討した分析条件ではマトリックスが多いと思われる食品試料を測定した後に大幅な感度低下が観察されることがあった。DB-5ms UI カラムを用いた PCDD/PCDFs 測定においては、食品試料を測定後に分析対象ピークのイオン強度が半分以下に低下する現象が生じた。PCDD/PCDFs 測定に使用する GC カラムを BPX-DXN に変更した結果、DB-5ms UI カラムと比較し大幅なイオン強度の低下が認められなかった。マトリックスが多い試料を含む約 15 試料を測定した後でも、ピークの高さと面積はほとんど変化していなかった。そこで、本年度は DB-5ms UI カラムの代わりに、BPX-DXN を使用してダイオキシン類分析の性能評価を実施した。

ダイオキシン類分析の LODs 及び LOQs

最も濃度が低い検量線用標準溶液の繰り返し測定(10 回)の標準偏差より LODs 及び LOQs を推定した。試料測定時(50 g 使用時)の PCDD/PCDFs の LODs は 0.002～0.012 pg/g、LOQs は 0.005～0.042 pg/g であった。Co-PCBs の LODs は 0.002～0.11 pg/g、LOQs は 0.007～0.38 pg/g であった。操作ブランクが認められた異性体は、OCDD、PCB 77 及び PCB 118 であったが、操作ブランク値の標準偏差より推定した LODs 及び LOQs は、検量線用標準液の繰り返し測定の標準偏差より推定した LODs 及び LOQs よりも小さい値となった。ガイドラインでは、LODs や操作ブランク値等の許容性を判断する基準として、目標検出下限が示されている。GC-MS/MS 分析の試料測定時の LODs を目標検出下限と比較すると、全てのダイオキシン類において目標検出下限を満たしていた。また LOQs についても目標検出下限を満たしており、本分析法はガイドラインに示された目標検出下限までのダイオキシン類を定量できると考えられた。

畜水産物における GC-MS/MS と高分解能 GC/MS のダイオキシン類分析値の比較

ボラ、牛肉、及び鶏卵試料を用いて GC-MS/MS と高分解能 GC/MS(従来法)によるダイオキシン類の分析値を比較した。各食品試料についてそれぞれ 5 試行の分析を行い、平均濃度と相対標準偏差(RSD)について比較した。GC-MS/MS の各異性体濃度の平均値は、高分解能 GC/MS に対して、ボラで 90～110%、牛肉で 91～108%、及び鶏卵で 90～106%であり良く一致していた。また、RSD もボラで 11.6%以内、牛肉で 8.0%以内、鶏卵で 8.8%以内であり、高分解能 GC/MS (ボラで 17.2%以内、牛肉で 12.5%以内、鶏卵で 15.1%以内)と比較して顕著に大きな値となることはなかった。

畜水産物に対するダイオキシン類の添加回収試験

マグロ、牛肉、及び鶏卵試料にダイオキシン類を添加した試料を作製し、それらを用いてダイオ

キシン類の分析性能（真度及び併行精度）を評価した。既知濃度のダイオキシン類を添加し、5併行で分析した際の真度及び併行精度を推定した。これらの 3 種の食品における PCDD/PCDFs の真度は 88～106%、併行精度は 9.7%以下であった。また、Co-PCBs の真度は 89～105%、併行精度は 3.4%以下であった。いずれも良好な真度と併行精度であった。また、GC-MS/MS 分析の SRM クロマトグラムに分析対象となるダイオキシン類の定量を妨害する夾雑ピークは認められなかった。

認証標準試料の分析

GC-MS/MS を用いたダイオキシン類分析の信頼性を検証するため、ダイオキシン類濃度が付与されている認証標準試料（WMF-01）を分析した。認証値が付与されているダイオキシン類については、全て LOQs 以上の分析値が得られ、認証値の平均値±2SD の範囲内であった。また、LOQs 以上となったその他のダイオキシン類の分析値についても、参考値の平均値±2SD の範囲内であった。GC-MS/MS 分析の SRM クロマトグラムに分析対象となるダイオキシン類の定量を妨害する夾雑ピークは認められず、LOQs 以上となった各ダイオキシン類の定量イオンと定性イオンのピーク面積比は検量線用標準溶液のピーク面積比の概ね±25%以内であった。

(3-1-2) APGC 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

APCI 法を用いた GC-MS/MS 測定条件の検討

毒性等価係数を有する 29 種のダイオキシン類（17 種の PCDD/PCDFs 及び 12 種の Co-PCBs）について、既報を参考にモニターイオン及びコリジョンエネルギー（eV）を選択した。GC カラムについては 29 種のダイオキシン類を良好に分離する必要があることから、2 種類の GC カラム（BPX-DXN 及び RH-12ms）を用いた。17 種の PCDD/PCDFs の内、2,3,4,7,8 － PeCDF、1,2,3,7,8,9－HxCDF、については、RH-12ms を用いて測定した。残りの PCDD/PCDFs については、BPX-DXN を用いて測定した。12 種の Co-PCBs については RH-12ms を用いて測定した。GC カラムの昇温条件については、本年度の分担研究報告書「（3-1-1）EI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討」を参考にした。

検量線の作成（RRF 及び RRFss の算出）

検量線作成用標準液を測定し RRF 及び RRFss を求めた。PCDD/PCDFs の RRF は 0.896～1.153（変動係数は 2.8～7.0%）、RRFss は 0.319～1.382（変動係数は 3.5～10.1%）であった。Co-PCBs の RRF は 1.004～1.111（変動係数は 2.7～4.8%）、RRFss は 0.506～0.920（変動係数は 5.0～8.1%）であった。ガイドラインでは検量線作成時の RRF の変動係数は 10%以内が目標とされている。今回得られた RRF の変動係数は 7.0%以下であることから、ガイドラインの目標値を満たしていた。

LODs 及び LOQs の推定

GC-MS/MS 分析の試料測定時（50 g 使用時）の LODs 及び LOQs については、最も濃度が低い検量線作成用標準液の繰り返し測定より推定した。なお、試験溶液調製時の操作ブランクを考慮していないことから暫定値とした。PCDD/PCDFs の LODs は 0.001～0.004 pg/g、LOQs は 0.002～0.012 pg/g であった。Co-PCBs の LODs は 0.002～0.093 pg/g、LOQs は 0.006～0.31 pg/g であった。ガイドラインでは、LODs や操作ブランク値等の許容性を判断する基準として、目標検出下限が示されている。GC-MS/MS 分析の試料測定時の LODs を目標検出下限と比較すると、全てのダイオキシン類において目標検出下限を満たしていた。また LOQs についても目標検出下限を満たしており、本分析法はガイドラインに示された目標検出下限までのダイオキシン類を定量できると考えられた。

認証標準試料の分析

APCI 法を用いた GC-MS/MS の魚試料への適用性を検討するため、認証標準試料（WMF-01）を分析した。分析の結果、LOQs 以上の分析

値が得られたダイオキシン類については概ね認証値（又は参考値）の平均値±2SD の範囲内に収まっていた。しかし、Co-PCBs である#118 の分析値は、認証値の平均値±2SD の範囲外となった。明確な原因は特定できなかったが、2,3',4,4',5-PeCB (#118)の内標準物質のピーク面積値が大きくなっていたことから、夾雑物による妨害の可能性が高いと考えられた。

(3-2)LC-MS/MS による食品中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の分析法の検討

選択性

UV-P、UV-326 及び UV-329 において、操作ブランクに定量限界値以上の面積値のピークが検出された。定性イオン／定量イオンの強度比も標準物質とおおよそ一致（80%～120%）しており、これらの BT は試験溶液調製操作によるコンタミネーションであると考えられた。そのため、この 3 種について本法で定量限界値 0.4 ng/g の分析を行うことは困難であった。UV-P、UV-326 及び UV-329 を測定するためには、さらなる検討が必要である。

魚介類試料については UV-P、UV-326 及び UV-329 を除く BT については、同一保持時間にピークが認められても、定量限界値濃度に相当するピーク強度の 1/10 未満であったことから、選択性に問題はなかった。ただし、カキ試料において UV-328 のピークがブランク試料から検出されたため、選択性の評価は行えなかった。この点に関しては、UV-328 を含有していないカキブランク試料を用いて再度検討する必要がある。しかしながら、カキのブランク試料において検出された UV-328 のピークは定性イオン/定量イオンの強度比が一致していた。さらに、他の魚介類試料での UV-328 のブランク試料における選択性に問題がないことからコンタミネーションによる影響は低いと考えられる。したがって、当該ピークはカキ試料から UV-328 が検出されたことによるものであると判断した。

また、TD 試料（第 10 群）では、魚介類試料の添加回収試験で良好な結果が得られていた 9 種のうち、UV-PS について分離困難な夾雑ピークが確認された。8 種の BT については、試料ブランクにおいて同一保持時間にピークが認められても、定量限界値濃度に相当するピーク強度の 1/10 未満であったことから、今回の定量限界値濃度における定量への影響は小さく、選択性に問題はないと判断した。

真度、併行精度及び LOQ

UV-360 については、前年度同様に良好な真度及び併行精度が得られなかった。

UV-P、UV-326、UV-329 及び UV-360 以外の 9 種の BT について、検討した魚介類試料における真度（n = 5）は 72.9%～119.4%、併行精度（RSD%）は 0.5%～12.2%で前年度の魚種同様に良好な結果が得られた。定量限界値濃度での添加回収試験のクロマトグラムより算出した *S/N*は、検討した何れの試料においても *S/N*≧10 を満たしていた。したがって、本法における定量限界値は魚介類試料では 9 種の BT について、0.4 ng/g と設定が可能であった。

TD 試料（第 10 群）3 種類における 8 種の BT の真度は、77.7%～117.1%で魚介類試料同様に良好な結果が得られた。概ね良好な結果であったが、ヘキサン転溶時の振とう後にエマルジョンが発生していたため、夾雑成分を多く含む試料を分析する場合、転溶時の塩化ナトリウム溶液の濃度等の転溶条件の検討が必要であると考えられる。

試料中の含量の測定

カキ試料において UV-328 が 0.6 ng/g 検出された。その他、すべての試料において定量限界値未満だった。しかしながら、操作ブランク以上かつ *S/N* 3 以上のピークが認められている試料もあり、その試料中に痕跡量の BT が含まれている可能性が示唆された。マグロやブリ等の特定の魚種においては、BT を含有しているという報告もあることから、必要に応じてより高感度な分析法を検討することが望ましいと考えられる。

(3-3)食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

PSA 固相カラムの検討

画分 1 における OPFRs の回収率は 75.5～106.3%、画分 2 における OPFRs の回収率は 0.01～1.9%となった。以上のことから溶出量 5 mL で OPFRs の殆どが溶出されていると考えられた。サーモン試料を用いて、PSA ミニ固相カラムからの回収率を評価した。サーモン試料中における OPFRs の回収率は、83.1～105.6%となり、良好な結果が得られた。以上のことから、OPFRs の一斉分析において、PSA 固相カラムによる精製が可能であることが確認された。

検出下限値の推定

今回推定された OPFRs の検出下限値は、GPC のみの場合で 0.0004～0.98 ng/g、GPC+PSA 精製の場合で 0.0004～0.72 ng/g であった。ブランク試験の結果 18 種類の OPFRs のうち、8 種類（TEP、TCEP、TCPP、TDCPP、TBP、TBEP、T4iPPhP および TEHP）が検出された。推定した OPFRs の検出下限値について、耐容一日摂取量(TDI)と比較を行った。TDI が示されている OPFRs について、TD 調査において当該物質が検出下限値で含まれていると仮定し、摂取量を試算した。試算された摂取量は TDI と比較して十分に低い値であったことから、少なくともこれらの OPFRs については、TD 調査において TDI との比較を行う上で、概ね適切な検出下限値であると考えられた。

添加回収試験

内部標準法により算出した OPFRs の回収率は、サーモン（GPC+PSA 精製）:75～120%、サーモン（GPC のみ）:72～109%、玄米:59～112%、牛乳：56～134%であった。玄米の T35DMPPhP、牛乳の T35DMPPhP、TEHP を除いて 70～120%の回収率が得られた。サーモンの添加回収試験の併行精度は、GPC+PSA 精製:0.4～6.5%、GPC のみ:0.5～18%であった。PSA 固相カラム精製を追加することによって、一部の OPFRs（TDBPP、EHDP および TEHP）の精度の向上が見られた。

また、クリーンアップスパイクの回収率は、サーモン（GPC+PSA 精製）:52～96%、サーモン（GPC のみ）:47～114%、玄米:69～96%、牛乳:61～90%であった。食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン」に記載されている目標値（40～120%）を満足した。

食品試料の分析

サーモン、玄米、牛乳、TD-1 群および 12 群を分析した結果、TCEP が玄米、牛乳、1 群および 12 群から、TBP が玄米および 1 群から、EHDPhP が 12 群から検出下限を超えて検出された。TCEP は環境中からの検出事例が報告されている。TBP は室内環境から精白米へ移行した事例もあることから、OPFRs は環境中から食品へと移行している可能性が示唆された。

(4)母乳のダイオキシン類汚染の実態調査と乳幼児の発達への影響に関する研究

初産婦の出産 1 か月後の母乳中のダイオキシン類濃度

ダイオキシン類として PCDDs7 種類、PCDFs10 種類、Co-PCBs12 種類を測定した。ダイオキシン類濃度の平均±標準偏差は 5.039±1.737 pg TEQ/g fat(中央値 4.611、範囲 3.002～8.785)であった。厚生労働科学研究として Co-PCBs12 種類を含めて測定を開始した 1998 年度からの傾向として、2013 年度まではダイオキシン類濃度の漸減傾向が認められ、その後 2017 年度までは横ばいを示したが、2018 年度以降は漸減傾向が認められた。環境中のダイオキシン類汚染が改善しており、2013 年から 2017 年にかけては既に基本的に下げ止まってプラトーに達している可能性も考えられるが、2018 年以降、漸減傾向と判断された。母乳中に排泄されるダイオキシン類量がさらに漸減するかどうかは今後の傾向を見る必要がある。

母乳中ダイオキシン類の発育発達への影響

2013 年度から 2024 年度までの本研究班での調査した中で、児の発育発達について十分なデ

ータが得られた 228 名を対象として、母乳中ダイオキシン類濃度と、出生時体重、出生時頭囲、母体年齢、母体喫煙、および発達に関する項目を獲得した月齢（禁止の理解、バイバイの理解、指示理解、発語、動作模倣、首の座り、寝返り、座位、つかまり立ち、伝い歩き）の Pearson の相関係数（両側）を評価したが、5%以下の有意な相関を示した項目は母体年齢(正の相関)のみだった。2021 年度の報告で、ダイオキシン類濃度と出生時の頭囲が単回帰分析・重回帰分析ともに負の相関を示していたため、改めて 2021 年度の報告に用いたものと同じモデルで重回帰分析を行ったところ、児の性別・在胎期間・母体年齢とは有意な相関と同程度の効果量を認めたが、今回の解析ではダイオキシン類濃度と出生時頭囲との間に有意な相関は認めなかった。2021 年度との結果の乖離に関しては、症例数が増えたことが影響した可能性があるが、本当にダイオキシン類濃度が児の身体発育に影響ないかは更に症例数を蓄積して再評価を行う必要があると考える。

(5) 国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害物質の調査に関する研究

MOE の情報収集

MOE については 2024 年の更新分を非がん影響および遺伝毒性に分けてまとめた。新たに報告されたのは、非がん影響については欧州食品安全機関（EFSA）による各種有機ヒ素化合物、臭素化フェノール、ポリ塩化ナフタレン類、英国毒性委員会（COT）による鉛の評価、一方、遺伝毒性（安全な量が設定できない）影響については EFSA による有機ヒ素化合物の一種であるジメチルアルシン酸（DMA(V)）であった。

現在 EFSA は、欧州委員会（EC）からの依頼により、ヒ素化合物に関する一連のリスク評価を実施中で、これまで無機ヒ素化合物（2024 年 1 月）、低分子有機ヒ素化合物（2024 年 7 月）、複雑な有機ヒ素化合物（2024 年 12 月）に関する科学的意見を発表しており、それらの評価結果をもとに今後、無機ヒ素と有機ヒ素の複合ばく露に関するリスク評価も予定している。無機ヒ素については、昨年度の分担研究報告書に記した通り、健康影響の指標である基準点（reference point）を $BMDL_{01}$（2009 年）0.3～8 μg/kg 体重/日（範囲）から、疫学研究を根拠にした $BMDL_{05}$ 0.06 μg iAs/kg 体重/日へと大幅に引き下げた。それにともない、MOE はさらに小さい値となり安全上の懸念があると結論された。今回 EFSA は、低分子有機ヒ素化合物についてはモノメチルアルソン酸（MMA(V)）とジメチルアルシン酸（DMA(V)）を対象に、また複雑な有機ヒ素化合物についてはアルセノベタイン、アルセノ糖、アルセノ脂質を対象に評価を実施している。それらの評価において健康への懸念があると結論されたのは、DMA(V)のみである。EFSA は、DMA(V)には遺伝毒性と発がん性がありそうだと判断し、EU 諸国における DMA(V)への推定暴露量をもとに算出した MOE が 10,000 を下回ったことから、食品に含まれる DMA(V)への暴露はヒトの健康への懸念を生じると結論した。ただし、リスクの大きさについては、DMA(V)の MOE は無機ヒ素の MOE に比べると大幅に大きいことから、リスクの大きさは無機ヒ素よりも遙かに小さいと言える。主要ばく露源は無機ヒ素と同じくコメ及びコメ製品であったことから、ヒ素化合物へのばく露によるリスクを総合的に考えると、コメ及びコメ製品を介したばく露については無機ヒ素のリスクに有機ヒ素のリスクが上乗せされる可能性がある。そのため、EFSA が複合ばく露によるリスクをどのように評価するのか注意しておく必要がある。さらに、2025 年 10 月に開催予定の第 101 回 FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）においてヒ素（無機、有機）がリスク評価の対象となっていることから、その評価の動向も注視しておくべきであろう。

英国 COT の評価では、妊娠可能年齢（16～49 歳）の女性における鉛の非がん影響の MOE を算出した。最も影響を受けやすい子供の知能発達の低下という有害影響をエンドポイントにした $BMDL_{01}$ 0.5 μg/kg 体重/日を基準点として、全

てのばく露源（食品、飲料水、土壌/粉塵）からの複合ばく露によるMOEは0.9～2と非常に小さい値が算出された。しかし COT は、利用したBMDL が乳児及び小児のばく露に関する複数のコホート研究における小さな影響（IQ の 1 ポイントの違い）を根拠にしているため保守的である可能性が高いことから、IQ の違いによる臨床的に有意な影響について明らかなリスクがないことを保証するには 10 以上の MOE で十分であると結論づけた。そのため、今回の COT の評価による鉛ばく露の MOE は非常に小さいが、最終的には、リスクは低い可能性が高く、現状では英国の大多数の女性と胎児の健康にとっていかなる懸念もありそうにないと結論された。MOE の大きさは、リスクを比較する際の有益な指標であるが、リスクの懸念を判断する際の MOE の指標値（一般的には、遺伝毒性のある場合は 10,000、非遺伝毒性の場合は 100）は評価の際の専門家の判断によるため、ときどき今回の COT の鉛評価のように特殊な場合がある。そのため、特に MOE が小さい場合には、評価時のリスクキャラクタリゼーションで MOE とリスクの大きさの指標についてどのように判断されたのかを確認することも重要となるだろう。

<u>情報収集 PFAS 関連の情報収集</u>

PFAS に関する国内外の動向について、この 1 年で特筆すべきことは、国内では内閣府食品安全委員会による健康影響評価の結果の最終通知（2024 年 6 月）、環境省の中央環境審議会水環境・土壌農薬部会水道水質・衛生管理小委員会における水質管理目標設定項目（PFOS と PFOA の合算値として 50 ng/L）から水質基準項目への変更方針案の了承（2025 年 2 月）、消費者庁食品衛生基準審議会食品規格・乳肉水産・伝達性海綿状脳症対策部会におけるミネラルウォーター類中のPFOS及びPFOAの規格基準設定の方針案の了承がある。食品衛生法のもとミネラルウォーター類の成分規格は、殺菌・除菌有と殺菌・除菌無の製品に区別して設定されている。今回の規格基準の方針検討では、殺菌・除菌無のミネラルウォーターについては原水の採水の段階から厳格に管理されていることを踏まえて、対象を殺菌・除菌有のミネラルウォーター類のみとし、水質基準案に準じて PFOS 及び PFOA の合算値として 50 ng/L が提案されている。

海外では、2024 年 4 月に米国環境保護局（EPA）により PFAS 第一種飲料水規制最終規則が発表された。EPA が設定した法的拘束力のある飲料水中の最大汚染レベル（Maximum Contaminant Levels）は非常に低い値が採用されているが、これらは測定の定量限界に基づいている。経過措置期間として、3 年間の初期モニタリング期間が提供されており、5 年後（2029 年）からは完全施行となる。定量限界を採用したほぼゼロリスクを目指す規制であり、実行可能性に疑問が残ることから、完全施行となった後の動向が気になるところである。またカナダ保健省も 2024 年 8 月にカナダ飲料水水質ガイドラインを最終化し、25 種類の PFAS の合算として目標値 30 ng/L を設定した。飲料水に含まれる PFAS については、2022 年に世界保健機関（WHO）が飲料水水質ガイドラインのバックグラウンド文書において暫定ガイドライン値（pGV）として、PFOS 及び PFAS に対してそれぞれ個別の pGV 0.1 µg/L、総 PFAS に対して 0.5 µg/L を提案していた。しかし、その後のパブリックコメントを受けて 2023 年 11 月に PFAS のレビューを継続することを発表し、現在は WHO のウェブサイト上からこれら暫定ガイドライン値が消されている状態である。そのため、WHO による飲料水中の PFAS のガイドライン値の設定については先が見通せず、いずれの国も、今後の WHO の検討次第で改めて検討が必要になる可能性がある。

その他、2024 年 10 月、ストックホルム条約残留性有機汚染物質検討委員会第 20 回会合（POPRC20）において、長鎖ペルフルオロカルボン酸（LC-PFCA：炭素数 9～21）とその塩及び LC-PFCA 関連物質について特定の免除を付した上でストックホルム条約の附属書 A（廃絶対象物質：製造・使用、輸出入の原則禁止）に掲載す

ることを検討するよう、第 12 回ストックホルム条約締約国会議（COP12）へ勧告することが決定している。

さらに EU では、2023 年 1 月に欧州 5 ヵ国（デンマーク、ドイツ、オランダ、ノルウェー、スウェーデン）から、REACH 規則のもと、PFAS に分類される全ての化合物の製造・上市・使用を制限する規制案が欧州化学品庁（ECHA）へ提出されており、2025 年に欧州委員会による採択を目指して着々と議論が進められている。PFAS の規制は広く産業分野全体に関わるため、食品に限らず PFAS の法的定義や規制方針について EU 以外に世界中で議論が継続しており、今後も注視していく必要があるだろう。

最後に、食品に含まれる PFAS について JECFA が 2027 年にリスク評価の実施を予定している。その評価を受けて、国際規格を策定するコーデックス委員会や世界各国の食品安全担当機関において JECFA の結論に応じた食品の安全性確保のための取組が検討されることになると予想されることから、特にフォローしておく必要がある。

(6) 原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究

(6-1) ラットを用いたプベルル酸等の毒性試験

<u>ラットを用いたプベルル酸の 28 日間反復経口投与毒性試験</u>

PA を雌雄の SD ラットに 28 日間反復経口投与した結果、主群において腎臓及び腺胃に毒性影響が認められた。腎臓に対する毒性影響として、尿検査（新鮮尿）における尿糖の増加及び血清生化学検査におけるクレアチニンの高値が雄の 10 mg/kg 群に、肉眼的病理学検査における腎臓の退色並びに病理組織学的検査における腎臓の近位尿細管の空胞化、壊死及び再生が雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群に認められ、さらに雄の 10 mg/kg 群では病理組織学的検査において間質の炎症細胞浸潤がみられた。また腺胃に対する毒性影響として、病理組織学的検査における腺胃粘膜のアポトーシス及びび漫性過形成が雄の 3 及び 10 mg/kg 群並びに雌の 3 mg/kg 群に認められた。以上の結果から、本試験条件下における、ラットに対する PA の無毒性量は雌雄ともに 1 mg/kg/day と判断した。

回復群では、雄の 10 mg/kg 群の 1 例の腎臓に肉眼的病理学検査において変色巣が認められ、病理組織学的検査においては限局性の間質の線維化、再生尿細管並びに腎乳頭における鉱質沈着及び集合管の拡張が認められた。同個体の腎臓の他の部位に異常は認められず、また同群の他の 4 例及び雌の 3 mg/kg 群の全例の腎臓にも異常は観察されなかった。主群における腎臓の病理所見は、雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群の全例に認められたことから、PA の腎毒性は回復性を有するものと総合的には判断されたものの、重篤な障害が生じた場合には線維化を含む慢性病変に移行する可能性も同時に示唆された。腺胃の変化は回復期間終了時には観察されず、回復性を示すと考えられた。

<u>ラットを用いた化合物 Y 及び Z の 7 日間反復経口投与毒性試験</u>

化合物 Y 及び Z を雌雄の SD ラットに 7 日間反復経口投与した結果、一般状態、体重、摂餌量及び器官重量に被験物質投与による影響は認められなかった。

尿検査（蓄尿）、血液学的検査及び血清生化学検査では、被験物質投与群において種々のパラメータの有意な変動が認められたが、尿検査における電解質の変動については、血清中濃度及び腎臓の病理組織学的検査における変化を伴わないことから、毒性学的意義に乏しい偶発的な変動と判断した。血液学的検査における白血球系パラメータの変動については、病理組織学的検査において検索した全ての臓器に炎症性病変はみられず、リンパ系・造血器系器官においても関連する病理学的変化は認められないことから、毒性学的意義を欠く変動と判断した。また、血清生化学検査における複数のパラメータの変動についても、関連する病理組織学的変化

を伴わないことから、毒性学的意義に乏しい偶発的な変動と判断した。

病理組織学的検査では、空腸、甲状腺及び下垂体における所見が対照群を含む各群に散発的に認められたが、いずれもラットに自然発生することが知られる変化であり、偶発的な所見と判断した。腎臓を含む他の臓器に、病理組織学的変化は認められなかった。

(6-2)プベルル酸の遺伝毒性試験

プベルル酸の Ames 試験

本試験の試験用量を設定するため 5000、1250、313、78.1、19.5、4.88 及び 1.22 µg/plate で用量設定試験を実施した。本被験物質による復帰変異コロニー数は、代謝活性化の有無にかかわらず、すべて の菌株において増加が認められ、代謝活性化しない場合の *E. coli* WP2 *uvrA* を除く菌株において、陰性対照値の 2 倍以上となる用量依存的な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

用量設定試験の結果に基づき本試験の用量は、代謝活性化の有無にかかわらず *S. typhimurium* TA 株及び代謝活性化する場合の *E. coli* WP2 *uvrA* においては、復帰変異コロニー数の増加が認められたため、本試験では最大比活性化が得られるよう代謝活性化しない場合の *S. typhimurium* TA1535、TA1537 においては 5000 µg/plate を最高用量として以下公比 2 で除した 2500、1250、625、313、156、78.1 及び 39.1 µg/plate の計 8 用量、代謝活性化しない場合の TA98、TA100 及び代謝活性化する場合のすべての菌株においては 5000 µg/plate を最高用量として以下公比 2 で除した 2500、1250、625、313 及び 156 µg/plate の計 6 用量の被験物質処理用量を設定した。代謝活性化しない場合の *E. coli* WP2 *uvrA* においては、復帰変異コロニー数の増加が認められるものの陰性対照値の 2 倍以上の増加は認められなかったため、生育阻害の認められた最低用量の 5000 µg/plate を最高用量として以下公比 2 で除した 2500、1250、625、313 及び 156 µg/plate の計 6 用量の被験物質処理用量を設定した。

本試験における被験物質による復帰変異コロニー数は、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての菌株において増加が認められ、代謝活性化しない場合の *E. coli* WP2 *uvrA* を除く菌株において、陰性対照値の 2 倍以上となる用量依存的な復帰変異コロニー数の増加が認められた。無菌試験では、最高用量の被験液及び S9 Mix に雑菌の生育は認められなかった。

プベルル酸の TGR 試験

用量設定試験の結果、10.0 mg/kg/day 以上の投与群では、雌雄において、一般状態の変化や顕著な体重減少が認められた。3.00 mg/kg/day 群では、雌雄ともに一般状態の変化および顕著な体重減少は認められなかった。Day 15 の剖検時、雌雄の 10.0 mg/kg/day 群において、腎臓の腫大、淡色化が認められた。3.00 mg/kg/day 群では、雌雄とも特筆すべき変化は認められなかった。以上の結果から 5.00 mg/kg/day が最大耐量付近と考えられた。

本試験においては、いずれの被験物質投与群においても一般状態および体重推移に変化は認められなかった。剖検時、5.00 mg/kg/day 群の 1/6 例において、腎臓の淡色化が認められた。その他の投与群においては特筆すべき変化は認められなかった。すべての投与群において、評価数 5 匹を確保することができたため、腺胃および腎臓からゲノム DNA を抽出し、1.25、2.50 および 5.00 mg/kg/day の 3 用量について、lacZ assay による遺伝子突然変異頻度体評価対象とした。

腺胃における lacZ assay 結果について、陰性対照群での突然変異体頻度の平均値±SD は、26.8±5.3(×10^{-6})であった。PA 投与群での突然変異体頻度の平均値±SD は、1.25、2.50 および 5.00 mg/kg/day 群で、それぞれ 32.7±7.6(×10^{-6})、32.5±7.0(×10^{-6})および 35.5±14.6(×10^{-6})であり、陰性対照群と比較し統計学的に有意な差は認められなかった。また陽性対照群にお

ける突然変異体頻度の平均値±SD は、472.3±71.8(×10^{-6})であり、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

腎臓における lacZ assay 結果について、陰性対照群での突然変異体頻度の平均値±SD は、30.0±7.5(×10^{-6})であった。PA 投与群での突然変異体頻度の平均値±SD は、1.25、2.50 および 5.00 mg/kg/day 群で、それぞれ 35.0±11.8(×10^{-6}), 48.8±37.0(×10^{-6})および 38.1±10.1(×10^{-6})であり、陰性対照群と比較し統計学的に有意な差は認められなかった。動物番号 3303 における突然変異体頻度は, 114.5 ×10^{-6}と高値を示したが、他の動物では突然変異体頻度の増加傾向は認められなかった。陽性対照群における突然変異体頻度の平均値±SD は、127.1±41.3(×10^{-6})であり、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

(7)紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究

(7-1)プベルル酸産生菌の性状及び紅麹製品への混入メカニズムの解析

***P. adametzioides* の代謝物の解析**

製造工場から分離された *P. adametzioides* 3 株が米培地にて産生した代謝物を解析した結果、PA のピークの他に、未知化合物 1、2、3 の 3 つのピークが認められた。千葉大学で保存されている *P. adametzioides* IFM68223 の代謝物のクロマトグラムにも、PA 及び化合物 1、2、3 のピークが観察された。これらの菌株の特徴を明らかにするため、3 種の未同定の化合物を解析した。*P. adametzioides* の米培地における培養物の 75%メタノール抽出液を酢酸エチルを用いた液々抽出、C18 カートリッジ、逆相 HPLC で精製し、PA (18 mg)、1(15 mg)、2(18 mg)、3(11 mg)を単離した。LC-Q TOF-MS を用いた精密質量解析及び NMR スペクトルから、1、2、3 をそれぞれ aspergillusol A、lapatin A、glyantrypine と同定した。

共培養試験

前培養開始時の混入を想定したモデル(モデル 1):*P. adametzioides* が *M. pilosus* の存在下で液体紅麹米粉培地中で生育できるかどうかを調べるため、*M. pilosus* と *P. adametzioides* の胞子懸濁液を同時に培地に添加した。その培養液を酸性条件の米培地に接種した結果、*P. adametzioides* が増殖し、培地は緑色の胞子で覆われた。その培養物からは PA が検出された。

本培養開始時の混入を想定したモデル(モデル 2):*P. adametzioides* が米培地中で *M. pilosus* とともに生育できるかを調べるため、液体米粉培地における *M. pilosus* の培養液と *P. adametzioides* の胞子懸濁液(100 cfu)を同時に米培地に接種し、生育を調べた。14 日後、培地上における *P. adametzioides* の生育は見られず、*M. pilosus* のみが菌糸を伸長させた。

本培養中の混入を想定したモデル(モデル 3):本培養中のサンプリング時や加水時に米培地が *P. adametzioides* に汚染された可能性を検証した。*P. adametzioides* の胞子懸濁液(100 cfu)を紅麹米に接種したところ、14 日間の培養期間中では *P. adametzioides* の増殖は観察されず、35 日間の培養後に *P. adametzioides* の菌糸が付着した米粒がわずかに認められた。

本培養後の混入を想定したモデル(モデル 4):オートクレーブ後に乾燥させた紅麹米に *P. adametzioides*(100 cfu)の胞子懸濁液を接種し、生育を調べた。14 日後、紅麹米上では *P. adametzioides* の増殖は観察されなかった。一方、オートクレーブ処理後に乾燥しなかった紅麹米に *P. adametzioides* を接種したところ、*P. adametzioides* の緑色の胞子に覆われた。

(7-2)化合物 Y 及び化合物 Z の立体構造解明

化合物 Y 及び Z の単離物と合成物の比較

UHPLC/HRMS により化合物 Y 単離物及び化合物 Y 合成物の試料溶液を分析した結果、どちらも約 28 分で溶出された。また、その MS スペクトル及び MS/MS スペクトルを比較したところ、すべて一致した。同様に化合物 Z 単離物及び化合物 Z 合成物についても分析を行った。その結果、

どちらの試料溶液からも、保持時間 20 分に同じ MS スペクトル及び MS/MS スペクトルを持ったピークが得られた。UHPLC/HRMS の結果から、化合物 Y、Z についてその単離物と混合物の平面構造は一致していると考えられた。さらに、化合物 Y 単離物及び化合物 Y 合成物、化合物 Z 単離物及び化合物 Z 合成物、lovastatin、lovastatin acid について ^{1}H-NMR 及び ^{13}C-NMR を行った。単離物と合成物の結果を比較したところ、化合物 Y、Z ともにほとんどのシグナルについて化学シフトが一致したが、^{1}H-NMR では 5’位、^{13}C-NMR では 5’位、6’位のシグナルについて、単離物と合成物で化学シフトが大きく異なった。合成物の 5’位、6’位のシグナルは、lovastatin acid のそれと近い値であったことから、合成物の立体配置は lovastatin acid と同一である可能性が高いと考えられた。一方で、単離物の 5’位、6’位のシグナルは化学シフトが大きく異なっていたことから、4’位の不斉炭素に関する立体配置が単離物と合成物では反対である可能性が考えられた。

<u>化合物 Z 混合溶液の NMR 分析</u>

前項での NMR 分析により、化合物 Y 及び Z の単離物と合成物の立体構造は、それぞれジアステレオマーの関係である可能性が生じた。ジアステレオマー同士の試料溶液を混合して NMR を測定した場合、立体配置の違いから生じた異なる化学シフトのシグナルについて、混合溶液からは両方のシグナルが得られる可能性が高い。そこで、二通りの混合比率で作成した化合物 Z 混合溶液の ^{1}H-NMR を行った。混合物の測定の結果、単離物と合成物でわずかに化学シフトが異なっていた 4’位、1’’位、3’’位のシグナルで、これらのシグナルが 2 本ずつ観測されるのではなく、単離物とも合成物とも異なる位置にシグナルが観測された。また、二通りの混合比率の結果を比較すると、単離物と合成物の混合比率により、シグナルがシフトする値が異なっていた。

これらの結果から、化合物 Z 単離物と化合物 Z 合成物の立体配置は一致している可能性が高いと考えられた。5’位、6’位の化学シフトの相違に関しては、単離物に含まれる不純物等が影響したものと考えられた。化合物 Y についてはサンプルの量が少なく、混合溶液の NMR 分析を行うことはできなかった。しかし、化合物 Y と化合物 Z では 5’位、6’位のシグナルの化学シフトについて、同様の傾向を示していた。そのため、化合物 Y についても化合物 Z と同じく、lovastatin acid と同一の立体構造であると考えられた。

<u>スポンジ結晶法</u>

化合物 Y、Z 合成物について、スポンジ結晶法による X 線構造解析を実施した結果、全ての立体配置が lovastatin acid の立体配置と一致した。化合物 Y、Z 単離物についても同様の手順で解析を試みたが、立体構造の特定には至らなかった。単離物は合成物よりも量が少なく、また不純物が多く含まれるため、本手法での構造解析が困難だったものと推測された。

D. 結論

(1-1)全国 7 地区 8 機関で調製した TD 試料の分析結果より、ダイオキシン類の国民平均一日摂取量は 0.41 pg TEQ/kg bw/day と推定された。行政施策の効果等によりダイオキシン類の摂取量は徐々に減少しており、1998 年の摂取量と比較すると 23%程度に減少している。現在の摂取量の平均値は TDI の 10%程度であり、TDI を十分に下回っている状態である。しかし、ダイオキシン類は有害物質の中では TDI 等の健康影響に基づく指標値に占める割合が比較的高い方である。また、ダイオキシン類は環境残留性や生物難分解が極めて高いことを考えると、長期的なリスク管理が望ましい。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調査していく必要がある。

(1-2)全国 10 地区で調製した TD 試料(10 群及び 11 群)による PCBs の摂取量調査を実施した結果、総 PCBs の国民平均一日摂取量は 250 ng/person/day と推定された。体重あたりでは 5.0 ng/kg bw/day と推定され、この値は日本の暫定

一日摂取許容量の僅か 0.1%程度であった。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%となった。NDL-PCBs の一日摂取量の全国平均値は 230 ng/person/day と推定され、その指標異性体である 6PCBs 摂取量の全国平均値は 80 ng/person/day と推定された。代表的な NDL-PCBs 異性体（PCB 28, 52, 128, 153, 180）の毒性データを用いて MOE を計算した結果、これらの異性体に対する MOE は 10,672～764,062 と十分に大きかった。

(1-3-1) 食品中の長鎖 PFAS（C10 以上）の分析に向け検討を行った。まず初めに、食品抽出液の一部を用いて PRiME HLB による精製を検討した。その結果、PFDA、PFUdA、PFDoA、PFTeDA、PFDS 及び PFDoS では、内標準法に従う回収率がいずれも目標値を満たした。一方で、PFTrDA、PFHxDA 及び PFODA では内標準法においても目標値から外れる場合が認められたため、固相担体への吸着が影響したものと考え、液液マイクロ分散抽出法の検討に取り組んだ。本分散抽出法の適用を行ったところ、牛肉試料において 9 種全種で良好な回収率が達成できた。

(1-3-2) 2022 及び 2023 年度に、それぞれ 2 地域において調製した TD 試料（2022-03、2022-04、2023-03 及び 2023-04）を分析し、PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の一日摂取量を推定した。各分子種の摂取量（LB～UB）は、PFOS では 11～262 ng/day、PFOA では 1.3～56 ng/day、PFHxS では 0～22 ng/day、PFNA では 3.2～98 ng/day と推定された。日本人の平均体重を 50 kg と仮定して体重あたりの摂取量に換算すると、PFOS では 0.23～5.2 ng/kg bw/day、PFOA では 0.025～1.1 ng/kg bw/day、PFHxS では 0～0.44 ng/kg bw/day、PFNA では 0.063～2.0 ng/kg bw/day と推定された。PFOS 及び PFOA の推定摂取量は、TDI の 1.1～26%及び 0.13～5.6%に相当し、その値は食品安全委員会から示された TDI を下回っていた。

(1-4) 一食分試料のダイオキシン類分析結果に基づき、乳幼児の昼食からのダイオキシン類摂取量を推定した。一食分試料からのダイオキシン類摂取量の平均値は乳児で 1.2 pg TEQ/食、幼児で平均値が 5.7 pg TEQ/食であった。幼児の一食分試料の平均値は乳児と比較すると 5 倍程度高かった。一食分試料からのダイオキシン類摂取量（平均値）の TDI に占める割合は、乳児で 3%程度、幼児で 14%程度であった。一方で、一日に 3 回喫食したと仮定すると、TDI を超過する試料も認められたことから、特定の種類や産地の食品を過度に摂取するのではなく、多様な食品を含むバランスの良い食生活を送ることが重要であると考えられる。

(2) 全国 10 地域で TD 試料を調製し、食品を介した元素類の摂取量評価を行った。HBGV と比較したところ、HQ は iAs (1.28 - 1.80)、Ni (0.14 - 1.00)、Mo (0.80)、Cd (0.24 - 0.68)、Mn (0.49)、Ba (0.04 - 0.37)、Me-Hg (0.24 - 0.36)、Al (0.16 - 0.33)、B (0.11 - 0.23) の順で高い値を示した。一方で、Pb の MOE (2.8-20.8) は不確実係数積 (1) よりも大きく健康リスクは小さいと考えられた。今年度から追加した Tl に関しては、MOE は 341 - 1363 と推定され、UFs である 3000 よりも小さく、健康リスクが懸念された。ただし、UFs が大きいことを考慮する必要があると考えられた。iAs の簡易分析法を用いて、地域ブロック別・年齢層別の摂取量を推定したところ、最大と最小の比は年代によって 1.83 (20-59 歳) - 2.14 (7-19 歳) と幅が認められ、70%の地域ブロック/年齢群で HBGV を超過する可能性が示唆された。Pb による幼児の発達神経毒性に関する健康リスクを詳細に評価するため確率論的摂取量推定を行ったところ、MOE の平均値は 2.71 ± 0.34 と推定された。摂取量推定における算出方法の違いによって、現行の方法とは 0.94 - 1.29 倍の違いが生じた。喫食量算出における重み付け法 a と b では、摂取量評価の目的が異なるため、本研究班における目的について整理する必要があると考えられた。

(3-1-1)PCDD/PCDFs 測定に使用する GC カラムを、DB-5ms UI カラムから BPX-DXN へ変更することで、マトリックスが多いと思われる食品試料を測定した後でも大幅な感度低下が認められなくなった。ボラ、牛肉、及び鶏卵を用いて GC-MS/MS と高分解能 GC/MS によるダイオキシン類の分析結果を比較した結果、両者の分析値は良く一致した。また、マグロ、牛肉、および鶏卵を対象にダイオキシン類の添加回収試験を実施した結果、良好な真度と併行精度が得られた。さらに、認証標準試料を GC-MS/MS により分析した結果、LOQs 以上となった異性体は認証値(又は参考値)の平均値±2SD の範囲内であった。以上より、本分析法は畜水産物中のダイオキシン類を良好に測定可能であると考えられる。

(3-1-2)APCI 法を用いた GC-MS/MS によるダイオキシン類分析の感度は良好であり、50 g の食品試料を用いればガイドラインに示されている目標検出下限を十分に達成できると考えられた。一方で、認証標準試料を分析した結果、一部のダイオキシン類については夾雑物による妨害が疑われた。今後は使用するモニターイオンや GC カラムの検討等が必要であると考えられる。

(3-2)検討した分析法の適用性を検証するため、魚介類試料及び TD 試料(第 10 群)で定量限界値濃度の添加回収試験を実施した。その結果、魚介類試料では前年度の魚試料と同様に 13 種のうち 9 種の BT で良好な結果が得られ、魚介類試料の定量限界値は 9 種の BT について、0.4 ng/g と設定が可能であった。また、TD 試料では 8 種の BT で真度 77.7%～117.1%の結果が得られた。試料中の含量の測定ではカキ試料において UV-328 が 0.6 ng/g 検出された。その他、すべての試料において定量限界値未満だった。しかしながら、その他の試料中に痕跡量の BT が含まれていることが示唆されており、必要に応じてより高感度な分析法を検討することが望ましいと考えられる。さらに、BT はプラスチックやシリコン製品からの混入が考えられることから、操作ブランクからの BT の混入を低減させることが課題である。

(3-3)PSA 固相ミニカラムによる精製の追加検討を行った上で、OPFRs 一斉分析法の検出下限値の推定、添加回収試験を実施した。PSA 固相ミニカラムによる精製について検討した結果、PSA 固相カラムは、OPFRs を損失することなく精製が可能であり、OPFRs の一斉分析法に適用可能であった。また、推定した OPFRs の検出下限値については、TD 調査において TDI との比較を行う上で概ね適切であると考えられた。サーモン、玄米、牛乳を用いて添加回収試験を行った結果、玄米の T35DMPPhP、牛乳の T35DMPPhP、TEHP を除いて 72～120%の回収率が得られ、概ね良好な結果となった。

(4) 2024 年度に提供を受けた初産婦の母乳中のダイオキシン類濃度は、昨年と同様に低値を示した。母乳中のダイオキシン類濃度は、調査開始時からの長期間的に見ると漸減傾向が続いている。今後母乳中に排泄されるダイオキシン類量がさらに漸減するかどうかは今後の傾向を見る必要がある。現在の母乳中のダイオキシン類の濃度レベルでは、生後の児の発育発達への明らかな影響は認められなかった。

(5) MOE については 2024 年の更新分を非がん影響および遺伝毒性に分けてまとめた。特に注目すべきは、EFSA が低分子の有機ヒ素化合物であるジメチルアルシン酸(DMA(V))について遺伝毒性と発がん性がありそうだと判断し、MOE が 10,000 を下回ったことから、食品に含まれる DMA(V)への暴露はヒトの健康への懸念を生じると結論したことだろう。ただし、無機ヒ素の MOE に比べると大幅に大きいことから、リスクの大きさでは無機ヒ素よりも遙かに小さいと考えられた。

さらに、PFAS についての動向を年表にまとめた。この 1 年で特筆すべきことは我が国で飲料水及びミネラルウォーター類(殺菌・除菌有)における規制方針がほぼ決定したことである。PFAS に関するリスク評価や規制制度は今後も国際的にさまざまな変化や更新が行われることが見込まれることから、それらの動向のフォローアップが必要

である。

(6) PA を雌雄 SD ラットに 28 日間反復経口投与した結果、腎臓及び腺胃に毒性影響が認められた。本試験条件下における、ラットに対する PA の無毒性量は雌雄ともに 1 mg/kg/day と判断された。化合物 Y 及び Z を雌雄 SD ラットに 7 日間反復経口投与した結果、本試験条件下においては、いずれの検査項目にも被験物質投与による毒性影響は認められなかった。

PA の遺伝毒性を検討するために Ames 試験と TGR 試験を行なった。その結果、Ames 試験は陽性判定であったが、フォローアップとなる in vivo 試験である TGR 試験は陰性と判定された。

(7)紅麹製品における PA の混入経路を明らかにするために、製造工場から分離された *P. adametzioides* が産生する代謝物の解析と、*M. pilosus* との共培養試験を実施した。その結果、工場から分離された *P. adametzioides* は、複数の培養条件で *M. pilosus* とともに米培地で生育し、PA を産生した。本結果から、紅麹における PA 汚染の原因が、紅麹の製造工場に生息していた *P. adametzioides* であること、及び紅麹の生産工程における *P. adametzioides* の混入は、前培養の開始から本培養後までのいずれかの時点で発生した可能性が明らかとなった。また、PA と同様に混入したと思われる新規化合物の化合物 Y 及び化合物 Z について、三通りの手法で分析を行い、これらの立体構造を明らかにした。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 登田美桜. 諸外国の新規食品制度について. ファルマシア, 60(10), 926-930 (2024)

2) 登田美桜, 市川範夫, 井上依子, 河恵子, 春田一絵, 與那覇ひとみ, 畝山智香子.「食品安全情報(化学物質)」のトピックスについて－令和5年度(2023). 国立医薬品食品衛生研究所報告, 142, 54-62 (2024)

3) Tanaka S, Masumoto N, Makino T, Matsushima Y, Morikawa T, Ito M: Novel compounds isolated from health food products containing beni-koji (red yeast rice) with adverse event reports. *J Nat Med*, 78, 845-848 (2024)

4) Takayama T, Shingu A, Kato S, Nagatomo R, Tsutsumi T, Inoue K: Countermeasure for interfered monitoring ion of perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) from intrinsic food samples based on LC-MS/MS analysis of per- and polyfluoroalkyl substances. J. Food Compos. Anal., 2024:133:106436.

5) Yoshinari T, Watanabe M, Aoki W, Tanaka S, Masumoto N, Ito M, Ohnishi T: Mechanism of puberulic acid contamination in red yeast rice tablets that caused a serious food poisoning outbreak in Japan. Proc Jpn Acad Ser B. 101, 302-316 (2025)

6) Matsushita K, Tsuji G, Akane H, Ishii Y, Takasu S, Ogawa K, Ito T, Yokoo H, Sennari G, Iwatsuki M, Hirose T, Hanaki H, Demizu Y, Hirabayashi Y, Saito Y, Honma M, Toyoda T: A 28-day subacute toxicity study of puberulic acid in Crl:CD(SD) rats. J Toxicol Pathol, in press

2. 学会発表

1) 伊藤美千穂: 紅麹関連製品に係る事案の原因究明の取り組み状況について. 第67回日本腎臓学会学術総会 (2024.6)

2) 堤 智昭, 足立利華, 張 天斉, 高附 巧, 鍋師裕美: GC-MS/MS による畜水産物中のダイオキシン類分析の検討. 第 32 回環境化学討論会(2024.7)

3) Tsutsumi T, Zhang T, Takatsuki S, Nabeshi H: Estimation of dietary intakes of dioxins and polychlorinated biphenyls in Japan in 2023. 44th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS (POPS) (2024.9)
4) Sato T, Tobiishi K, Hori T, Tsutsumi T: Simultaneous Measurement Method for Organophosphate Flame Retardants: Comparison of LC-MS/MS and GC-MS/MS. 44th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS (POPS) (2024.9)
5) 吉成知也:紅麹配合食品における健康被害事例の原因探索. 第 49 回カビ毒研究連絡会(2024.9)
6) Tsutsumi T, Suzuki Y: Total Diet Studies on Food Contaminants in Japan: Current Findings with Time Trends. International Conference on Food Safety and 39th KoSFoS Annual Meeting, (2024.11)
7) 張天斉, 高附巧, 武村奈穂, 鍋師裕美, 堤智昭: トータルダイエット試料によるダイオキシン類の摂取量推定(令和5年度). 第61回全国衛生化学技術協議会年会(2024.11)
8) 鈴木美成, 張本雅恵, 北山育子, 高橋未来, 堤智昭: トータルダイエット試料を用いた有害元素のばく露量推定. 第 61 回全国衛生科学技術協議会年会 (2024.11)
9) 中代智菜美, 今井浩一, 堤 智昭:LC-MS/MS による魚試料中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の一斉分析法の検討. 第 120 回日本食品衛生学会学術講演会 (2024.11)
10) 佐藤 環、飛石和大、堀 就英、堤 智昭:食品中のリン酸エステル系難燃剤の一斉分析法の検討(2). 第 120 回日本食品衛生学会学術講演会 (2024.11)
11) 鈴木美成: レギュラトリーサイエンスと食品安全に貢献する有害元素分析. プラズマ分光分析研究会第 124 回講演会 (2025.3)
12) 伊藤美千穂: 紅麹を含む健康食品の健康被害事案原因究明チームのひとりとして働きました. 国立衛研・島津製作所 第 4 回技術交流会 (2024.12)
13) 吉成知也:紅麹サプリメントによる健康被害の原因究明について. 令和6年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部衛生化学部会 (2025.2)
14) 伊藤美千穂: 紅麹を含む機能性表示食品による事故の調査経緯について. 日本薬学会第 145 年会 (2025.3)
15) 松下幸平, 辻厳一郎, 赤根弘敏, 石井雄二, 高須伸二, 小川久美子, 伊藤貴仁, 横尾英知, 出水庸介, 平林容子, 齋藤嘉朗, 本間正充, 豊田武士:プベルル酸のラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験. 第52回日本毒性学会学術年会(2025.7)

G. 知的財産権の出願、登録

なし

Ⅱ．分担研究報告書

(1) 食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

(1-1)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

研究分担者　堤　智昭

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究
(1-1)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

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

マーケットバスケット方式によるトータルダイエット（TD）試料を用いて、ダイオキシン類(PCDD/PCDFs及びCo-PCBs)の国民平均一日摂取量を推定した。国民健康・栄養調査による地域別の国民平均食品摂取量に基づいて食品を購入し、飲料水を含め14群から成るTD試料を全国7地区8機関で調製した。過去の調査からダイオキシン類摂取量に占める割合の高い食品群である10群（魚介類）及び11群（肉・卵類）については、各機関がそれぞれ各3セットの試料を調製し、その他の食品群は各1セットの試料を調製した。10及び11群については試料毎にダイオキシン類を分析し、その他の群は全地区の試料を混合して分析し、ダイオキシン類の一日摂取量を推定した。その結果、体重（50 kgと仮定）あたりのダイオキシン類の全国平均摂取量は0.41（範囲：0.16～0.77） pg TEQ/kg bw/dayと推定された。10群（魚介類）からのダイオキシン類摂取量が全体の9割程度を占めていた。摂取量推定値の平均は、日本の耐容一日摂取量（4 pg TEQ/kg bw/day）の約10%であった。摂取量推定値の最大は0.77 pg TEQ/kg bw/dayであり、平均値の約1.9倍となり、耐容一日摂取量の19%程度に相当した。また、同一機関であっても推定されるダイオキシン類摂取量に1.4～2.4倍の開きがあり、10群及び11群に含まれている食品のダイオキシン類濃度が摂取量に大きな影響を与えていた。

また、最近公表された新しいTEFs（2022 WHO-TEFs）を使用した場合のダイオキシン類の一日摂取量についても参考値として算出した。過去のダイオキシン類摂取量（全国平均値）を現行のTEFs（2005 WHO-TEFs）を使用した場合と比較すると、新しいTEFsを用いた場合の摂取量は、6割程度の値となった。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

高附 巧、張 天斉、足立利華、鍋師裕美

A. 研究目的

トータルダイエット(TD)試料を用いたダイオキシン類の摂取量調査は、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、毎年実施されており、国民のダイオキシン類摂取量とその経年推移に関する知見が得られている。最新の国民平均のダイオキシン類摂取量を推定するため、本年度も昨年度に引き続き全国 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、一日摂取量を推定した。

B. 研究方法

1. 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 29 年(2017 年)～令和元年(2019 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、海草類
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(TEFs)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」(以下、ガイドライン)[1)]に準じた

3-1. 試験溶液の調製

3-1-1. 3 群, 4 群, 9～13 群

均一化した試料 50 g(4 群は 10 g)をビーカーに量りとり、クリーンアップスパイク(^{13}C 標識した PCDD/PCDFs 各 40 pg(OCDD/OCDF は 80 pg)、ノンオルト PCBs 各 100 pg、モノオルト PCBs 各 2.5 ng)を加えた後、2 mol/L 水酸化カリウム水溶液を 200 mL 加え室温で約 16 時間放置した。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 150 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。ヘキサン層を合わせ、2%塩化ナトリウム溶液 150 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、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルカラムをヘキサン 200 mL で洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサン 200 mL で溶出した。溶出液は溶媒を留去し、約 2 mL のヘキサンに溶解した。ヘキサンで湿式充填したアルミナカラムに試験溶液を注入し、ヘキサン 150 mL で洗浄後、2%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 200 mL 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 200 mL 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 500 μL(^{13}C 標識体 2.5 ng)を添加し高分解能 GC/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スカラムに注入し、10 分程度放置した。25%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 80 mL でカラムを洗浄後、カラムを反転させ、トルエン 80 mL で PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリンジスパイク 20 μL(PCDD/PCDFs 用 ^{13}C 標識体 40 pg、ノンオルト PCB 用 ^{13}C 標識体 100 pg)を添加し高分解能 GC/MS に供した。

3-1-2. 1 群, 2 群, 5～8 群

均一化した試料 50 g をナスフラスコに量りとり、クリーンアップスパイク(^{13}C 標識した PCDD/PCDFs 各 40 pg(OCDD/OCDF は 80 pg)、ノンオルト PCBs 各 100 pg、モノオルト PCBs 各 2.5 ng)を加えた後、アセトン 150 mL、ヘキサン 150 mL を加え 1 時間振とう抽出をした。抽出溶液を吸引ろ過し、残渣にアセトン 50 mL、ヘキサン 50mL を加え 15 分間振とうし、同様の操作を行なった。抽出液を分液ロートに合わせ、2%塩化ナトリウム溶液 150 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、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。この溶液を 3-1-1 で記述したように多層シリカゲルカラム、アルミナカラム、及び活性炭分散シリカゲルリバースカラムにより精製後、シリンジスパイクを添加し高分解能 GC/MS に供した。

3-1-3. 14 群

試料 5 L を 1.25 L ずつ分液ロートに量りとり、各分液ロートにジクロロメタン 150 mL を加え 15 分間振とう抽出をした。ジクロロメタン層を分取

し、水層にジクロロメタン 150 mL を加え同様の操作を行った。ジクロロメタン層を合わせ、クリーンアップスパイク(13C 標識した PCDD/PCDFs 各 40 pg(OCDD/OCDF は 80 pg)、ノンオルト PCBs 各 100 pg、モノオルト PCBs 各 2.5 ng)を加えた後、無水硫酸ナトリウムで脱水した。その後、溶媒を留去し、200 mL のヘキサンに溶解し分液ロートに移した。ヘキサン溶液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、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。この溶液を 3-1-1 で記述したように多層シリカゲルカラム、アルミナカラム、及び活性炭分散シリカゲルリバースカラムにより精製後、シリンジスパイクを添加し高分解能 GC/MS に供した。

3-2. 高分解能 GC/MS 測定

高分解能 GC/MS: 7890B (Agilent Technologies) /MStation JMS-800D UltraFOCUS 日本電子(株)社製

1)GC 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(内径 0.32 mm×60 m、膜厚 0.25 μm)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:250℃

注入量:1.5 μL

昇温条件:130℃(2 分保持)-30℃/分-200℃-5℃/分-220℃(16 分保持)-6℃/分-300℃(10 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.8 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 μm)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:250℃

注入量:2.0 μL

昇温条件:130℃(2 分保持)-30℃/分-200℃-3℃/分- 280℃(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(内径 0.22 mm×50 m、膜厚 0.25 μm)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:1.5 μL

昇温条件:130℃(1 分保持)-15℃/分-220℃(5 分保持)-2℃/分-300℃(1 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.2 mL/分)

2)MS 条件

MS 導入部温度 : 280℃

イオン源温度 : 280℃

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

モニターイオン : ガイドライン[1]に準じた。

4. ダイオキシン類摂取量の推定

TD 試料におけるダイオキシン類の毒性等量(TEQ)濃度に、各食品群の食品摂取量を乗じてダイオキシン類の一日摂取量を推定した。TEQ の算出には 2005 年に定められた TEFs(2005 WHO-TEFs)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。また、一部については、最近公表された新しい TEFs(2022 WHO-TEFs)[2]を用いた場合のダイオキシン類の一日摂取量も参考値として算出した。現行の TEFs と新しい TEFs を付表 1 に

示した。

なお、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。過去の報告書 [3]で示したとおり、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

7 地区の 8 機関において調製した 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。表 1～3 には、ND=0 の場合の PCDD/PCDFs、Co-PCBs 及び両者を合計したダイオキシン類の一日摂取量を示した。また、10 及び 11 群は機関毎に 3 試料からの分析値が得られるので、表 1～3 では 10 及び 11 群の各群からのダイオキシン類摂取量の最小値の組み合わせを#1、中央値の組み合わせを#2、最大値の組み合わせを#3 と示した。従って、PCDD/PCDFs 及び Co-PCBs 摂取量の最小値、中央値、最大値と#1、#2、#3 とは必ずしも一致しない。

1. PCDD/PCDFs 摂取量

PCDD/PCDFs の一日摂取量は、平均 7.23(範囲:2.53～16.12)pg TEQ/person/day と推定された。これを、日本人の平均体重を 50 kg として、体重(kg)あたりの一日摂取量に換算すると、平均 0.14(範囲:0.05～0.32) pg TEQ/kg bw/day となった(表 1)。昨年度は平均 0.13(範囲:0.02～0.24) pg TEQ/kg bw/day であり [4]、今年度の平均値はほぼ同じ値であった。最大の摂取量となった TD 試料は、北海道地区で作製した 10 群試料(#3)であった。PCDD/PCDFs 摂取量(全国平均値)に占める割合が高い食品群は、10 群(魚介類)73.2%、11 群(肉・卵類)23.8%であり、これら 2 群で全体の 97.0%と大部分を占めた。

2. Co-PCBs 摂取量

Co-PCBs の一日摂取量は、平均 13.10(範囲:5.39～27.66)pg TEQ/person/day と推定された。体重あたりの摂取量は平均 0.26(範囲:0.11～0.55)pg TEQ/kg bw/day であった(表 2)。昨年度は平均 0.27(範囲:0.10～0.59)pg TEQ/kg bw/day であり [4]、今年度と昨年度の平均値はほぼ同じ値であった。また、最大の摂取量となった TD 試料は、北海道地区で作製した 10 群試料(#3)であった。Co-PCBs 摂取量(全国平均値)に占める割合が高い食品群は、10 群(魚介類)97.6%、11 群(肉・卵類)2.4%であり、これら 2 群で全体の 99.9%と大部分を占めた。

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一日摂取量は、平均 20.33(範囲 7.92～38.53)pg TEQ/person/day と推定された。体重あたりの摂取量は平均 0.41(範囲:0.16～0.77)pg TEQ/kg bw/day であった(表 3)。平均値は日本のダイオキシン類の TDI(4 pg TEQ/kg bw/day)の約 10%であり、最大値は TDI の 19%程度に相当した。昨年度は平均 0.40(範囲:0.12～0.79) pg TEQ/kg bw/day であり [4]、今年度の平均値は昨年度の平均値とほぼ同じ値であった。

ダイオキシン類摂取量に対する寄与率が高い食品群は、10 群(魚介類)88.9%、11 群(肉・卵類)10.0%であり、これら 2 つの食品群で全体の 98.9%を占めた。この傾向は昨年度の調査と同様の傾向であった。また、ダイオキシン類摂取量に占める Co-PCBs の割合は、64%であった。一昨年度及び昨年度における割合は共に 67%及び 69%であり、ほぼ 7 割で推移している。

本研究では、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。今年度は、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 1.4～2.4 倍の開きがあった。昨年度は同一機関における最小値と最大値の開きは 1.2～3.1 倍であり[4]、今年度の最小値と最大値の開きは昨年度と比べやや小さかった。3 セットの試料は、同一機関（地域）において、種類、産地、メーカー等が異なる食品を使用して調製していることから、10 群及び 11 群に含まれる食品のダイオキシン類濃度は広い範囲に分布していることが推察された。1 セットの TD 試料に含めることが可能な食品の数は限られているため、本研究のように 10 群や 11 群の試料数を多くして広範囲な食品を含めることが、信頼性の高いダイオキシン類摂取量の平均値の推定には有用であると考えられる。

4. ダイオキシン類摂取量の経年変化

平成 10（1998）年度以降の調査で得られたダイオキシン類摂取量（全国平均値）の経年変化を図 1 に示した。全食品群からの合計値の他、ダイオキシン類摂取量に大きな割合を占めた 10 群と 11 群からの摂取量についてもあわせて示した。昨年度までの摂取量は、令和 5 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金研究報告書[4]から引用した。ダイオキシン類摂取量の合計値は、1998 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る。本年度（2024 年度）の全国平均値は 0.41 pg TEQ/kg bw/day であり、1998 年度以降の調査結果の中で 3 番目に低い値であった。また、調査開始時の 1998 年度の摂取量は 1.75 pg TEQ/kg bw/day であり、これと比較すると本年度の平均値は 23%程度であった。同様に、10 群からの摂取量も、調査期間内で緩やかな減少を示していた。一方、11 群からの摂取量は、2006 年度までに大きく減少し、その後は低い値でほぼ一定となっていた。このように、ダイオキシン類摂取量の減少には、2006 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、2006 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。

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、1999 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。ダイオキシン類摂取量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、10 群の食品消費量は近年ゆるやかな減少を示しており、今年度の 10 群の食品消費量は 1998 年と比較して約 65%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。

5. 国内外のダイオキシン類摂取量調査との比較

過去 15 年間に実施された日本と主な諸外国の TD 調査の結果を表 4 に示した。日本国内では本調査の他に、東京都が実施しているダイオキシン類摂取量調査の報告がある。東京都の令和 4 年度（2022 年度）のダイオキシン類摂取量は 0.44 pg TEQ/kg bw/day と報告[5]されており、本調査結果と近い値であった。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、本調査のダイオキシン類摂取量は諸外国で報告[6-12]されているダイオキシン類摂取量と比較し、特に高いことはなかった。

6. 新しい TEFs を使用したダイオキシン類摂取量との比較

最近公表された新しい TEFs（2022 WHO-TEFs）を用いて、平成 10（1998）年度以降のダイオキシン類摂取量（全国平均値）を再計算し、その結果を現行の TEFs を使用した場合と比較した（表 5）。新しい TEFs で算出した摂取量は、いず

れの年度においても現行の TEFs で算出した摂取量よりも小さくなり、平均すると 6 割程度の値となった。TD 試料中の TEQ 濃度に占める割合が高い異性体である PCB 126 は、新しい TEFs において現行の 1/2 となっていることから、このことが減少に大きく影響したものと考えられる。

D. 結論

全国 7 地区 8 機関で調製した TD 試料の分析結果より、ダイオキシン類の国民平均一日摂取量は 0.41 pg TEQ/kg bw/day と推定された。行政施策の効果等によりダイオキシン類の摂取量は徐々に減少しており、1998 年の摂取量と比較すると 23%程度に減少している。現在の摂取量の平均値は TDI の 10%程度であり、TDI を十分に下回っている状態である。しかし、ダイオキシン類は有害物質の中では TDI 等の健康影響に基づく指標値に占める割合が比較的高い方である。また、ダイオキシン類は環境残留性や生物難分解性が極めて高いことを考えると、長期的なリスク管理が望ましい。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調査していく必要がある。

E. 参考文献

1) 食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン、食安監発第 0228003（平成 20 年 2 月 28 日）
2) DeVito M, Bokkers B, van Duursen M, van Ede K, Feeley M, Fernandes Gáspár E, Haws L, Kennedy S, Peterson R, Hoogenboom R, Nohara K, Petersen K, Rider C, Rose M, Safe S, Schrenk D, Wheeler M, Wikoff D, Zhao B, van den Berg M: The 2022 world health organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for polychlorinated dioxins, dibenzofurans and biphenyls. Regulatory Toxicology and Pharmacology,2024:146:105525.
3) 平成 28 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金研究報告書「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」分担研究報告書（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）
4) 令和 5 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金研究報告書「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のための研究」分担研究報告書（食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究）
5) 東京都福祉保健局健康安全部環境保健衛生課, 令和 4 年度 食事由来の化学物質等摂取量推計調査, https://www.hokeniryo.metro.tokyo.lg.jp/kankyo/kankyo_eisei/senmoniinkai/kankyousenmoniinkai/r5_kagakubunkakai.files/02_r5siryou1.pdf.pdf
6) Barone G, Storelli A, Busco A, Mallamaci R, Storelli MM: Polychlorinated dioxins, furans (PCDD/Fs) and dioxin-like polychlorinated biphenyls (dl-PCBs) in food from Italy: Estimates of dietary intake and assessment. J Food Sci. 2021;86:4741-4753.
7) Windal I, Vandevijvere S, Maleki M, Goscinny S, Vinkx C, Focant J, Eppe G, Hanot V, Van Loco J: Dietary intake of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs of the Belgian population. Chemosphere, 2010:79:334-340.
8) Lacomba I, Socas-Hernández C, López A, Pardo O, Yusà V, Isabel Beser Y, Marín S, Villalba P, Coscollà C: Levels, patterns and risk assessment of PCDD/Fs and dl-PCBs through dietary exposure in the Valencian Region (Spain). Food Research International, 2024:176: 113839.
9) Wong WWK, Yip YC, Choi KK, Ho YY, Xiao

Y: Dietary exposure to dioxins and dioxin-like PCBs of Hong Kong adults: results of the first Hong Kong Total Diet Study. Food Additives & Contaminants: Part A, 2013:30:2152-2158.
10) Zhang L, Yin S, Wang X, Li J, Zhao Y, Li X, Shen H, Wu Y: Assessment of dietary intake of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls from the Chinese Total Diet Study in 2011. Chemosphere, 2015:137:178-184.
11) Bramwell L, Mortimer D, Rose M, Fernandes A, Harrad S, Pless-Mulloli T: UK dietary exposure to PCDD/Fs, PCBs, PBDD/Fs, PBBs and PBDEs: comparison of results from 24-h duplicate diets and total diet studies. Food Additives & Contaminants: Part A, 2017: 34:65-77.
12) Food Standards Australia New Zealand. (2020) The 26th Australian total diet study. https://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/26th%20ATDS%20report.pdf

F.研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) Tsutsumi T, Zhang T, Takatsuki S, Nabeshi H: Estimation of dietary intakes of dioxins and polychlorinated biphenyls in Japan in 2023. 44th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS (POPS) (2024.9)
2) Tsutsumi T, Suzuki Y: Total Diet Studies on Food Contaminants in Japan: Current Findings with Time Trends. International Conference on Food Safety and 39th KoSFoS Annual Meeting, (2024.11)
3) 張天斉, 高附巧、武村奈穂, 鍋師裕美, 堤智昭: トータルダイエット試料によるダイオキシン類の摂取量推定(令和5年度). 第61回全国衛生化学技術協議会年会(2024.11)

【謝辞】

TD 試料の調製にご協力いただいた研究機関の諸氏に感謝いたします。

表1　令和6年度トータルダイエット試料（1～14群）からのダイオキシン(PCDDs+PCDFs)1日摂取量(ND=0)

(pgTEQ/day)

食品群	北海道地区			東北地区			関東地区						中部地区			関西地区		
							Ⅰ			Ⅱ								
1群（米、米加工品）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
2群（米以外の穀類、種実類、いも類）	0.02			0.02			0.02			0.02			0.02			0.02		
3群（砂糖類、菓子類）	0.03			0.03			0.03			0.03			0.03			0.03		
4群（油脂類）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
5群（豆・豆加工品）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
6群（果実、果汁）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
7群（緑黄色野菜）	0.03			0.03			0.03			0.03			0.03			0.03		
8群（他の野菜類、キノコ類、海草類）	0.08			0.08			0.08			0.08			0.08			0.08		
9群（酒類、嗜好飲料）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
10群（魚介類）	5.66	6.13	10.57	4.07	4.95	5.62	7.10	7.40	8.40	3.43	3.19	5.04	2.31	2.37	4.35	3.28	4.22	6.83
11群（肉類・卵類）	0.04	0.04	0.09	0.52	4.74	4.08	2.26	3.36	3.12	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.01	0.04	0.55	9.08
12群（乳・乳製品）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
13群（調味料）	0.04			0.04			0.04			0.04			0.04			0.04		
14群（飲料水）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
総摂取量(pgTEQ/day)	5.92	6.39	10.87	4.81	9.90	9.91	9.58	10.97	11.73	3.65	3.41	5.35	2.53	2.59	4.57	3.53	4.99	16.12
摂取量(pgTEQ/kg bw/day)	0.12	0.13	0.22	0.10	0.20	0.20	0.19	0.22	0.23	0.07	0.07	0.11	0.05	0.05	0.09	0.07	0.10	0.32

食品群	中国・四国地区			九州地区			平均摂取量	標準偏差	比率（%）
1群（米、米加工品）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
2群（米以外の穀類、種実類、いも類）	0.02			0.02			0.02	0.00	0.25
3群（砂糖類、菓子類）	0.03			0.03			0.03	0.00	0.43
4群（油脂類）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.03
5群（豆・豆加工品）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.03
6群（果実、果汁）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
7群（緑黄色野菜）	0.03			0.03			0.03	0.00	0.43
8群（他の野菜類、キノコ類、海草類）	0.08			0.08			0.08	0.00	1.16
9群（酒類、嗜好飲料）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
	#1	#2	#3	#1	#2	#3			
10群（魚介類）	4.36	4.75	5.29	5.02	4.77	7.89	5.29	1.98	73.20
11群（肉類・卵類）	0.01	0.06	4.10	0.49	4.74	3.91	1.72	2.39	23.83
12群（乳・乳製品）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.04
13群（調味料）	0.04			0.04			0.04	0.00	0.59
14群（飲料水）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
総摂取量(pgTEQ/day)	4.59	5.02	9.60	5.72	9.72	12.01	7.23	3.64	100.00
摂取量(pgTEQ/kg bw/day)	0.09	0.10	0.19	0.11	0.19	0.24	0.14	0.07	

＊一部の地域（北海道及び東北地区、中国・四国及び九州地区）の食品群1～9、12～14群は共通試料を使用した。

＊＊食品群10及び11におけるダイオキシン類（PCDDs+PCDFs+Co-PCBs）摂取量（ND=0）の最小値の組み合わせを#1、中央値の組み合わせを#2、最大値の組み合わせを#3とした。

表2　令和6年度トータルダイエット試料（1～14群）からのCo-PCBs類1日摂取量(ND=0)

(pgTEQ/day)

食品群	北海道地区			東北地区			関東地区						中部地区			関西地区		
							Ⅰ			Ⅱ								
1群（米、米加工品）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
2群（米以外の穀類、種実類、いも類）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
3群（砂糖類、菓子類）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
4群（油脂類）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
5群（豆・豆加工品）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
6群（果実、果汁）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
7群（緑黄色野菜）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
8群（他の野菜類、キノコ類、海草類）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
9群（酒類、嗜好飲料）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
10群（魚介類）	10.49	14.10	27.64	8.60	12.08	11.59	15.66	15.47	22.39	7.00	8.07	14.10	5.38	5.54	13.83	8.74	10.71	13.21
11群（肉類・卵類）	0.01	0.06	0.01	1.48	0.02	1.71	0.04	0.04	1.30	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.09	0.05	0.01	0.01
12群（乳・乳製品）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
13群（調味料）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
14群（飲料水）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
総摂取量(pgTEQ/day)	10.51	14.16	27.66	10.09	12.11	13.30	15.72	15.51	23.70	7.02	8.09	14.13	5.39	5.55	13.92	8.80	10.73	13.23
摂取量(pgTEQ/kg bw/day)	0.21	0.28	0.55	0.20	0.24	0.27	0.31	0.31	0.47	0.14	0.16	0.28	0.11	0.11	0.28	0.18	0.21	0.26

食品群	中国・四国地区			九州地区			平均摂取量	標準偏差	比率 (%)
1群（米、米加工品）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
2群（米以外の穀類、種実類、いも類）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
3群（砂糖類、菓子類）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.01
4群（油脂類）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
5群（豆・豆加工品）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
6群（果実、果汁）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
7群（緑黄色野菜）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
8群（他の野菜類、キノコ類、海草類）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
9群（酒類、嗜好飲料）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
	#1	#2	#3	#1	#2	#3			
10群（魚介類）	11.01	11.99	18.23	11.12	11.44	18.40	12.78	5.15	97.60
11群（肉類・卵類）	0.01	0.04	0.03	0.01	0.45	1.94	0.31	0.61	2.35
12群（乳・乳製品）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.04
13群（調味料）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
14群（飲料水）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
総摂取量(pgTEQ/day)	11.04	12.03	18.27	11.14	11.90	20.35	13.10	5.31	100.00
摂取量(pgTEQ/kg bw/day)	0.22	0.24	0.37	0.22	0.24	0.41	0.26	0.11	

＊一部の地域（北海道及び東北地区、中国・四国及び九州地区）の食品群1～9、12～14群は共通試料を使用した。

＊＊食品群10及び11におけるダイオキシン類（PCDDs+PCDFs+Co-PCBs）摂取量（ND=0）の最小値の組み合わせを#1、中央値の組み合わせを#2、最大値の組み合わせを#3とした。

表3　令和6年度トータルダイエット試料（1～14群）からのダイオキシン類1日摂取量(ND=0)

(pgTEQ/day)

食品群	北海道地区			東北地区			関東地区						中部地区			関西地区		
							Ⅰ			Ⅱ								
1群（米、米加工品）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
2群（米以外の穀類、種実類、いも類）	0.02			0.02			0.02			0.02			0.02			0.02		
3群（砂糖類、菓子類）	0.03			0.03			0.03			0.03			0.03			0.03		
4群（油脂類）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
5群（豆・豆加工品）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
6群（果実、果汁）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
7群（緑黄色野菜）	0.03			0.03			0.03			0.03			0.03			0.03		
8群（他の野菜類、キノコ類、海草類）	0.08			0.08			0.08			0.08			0.08			0.08		
9群（酒類、嗜好飲料）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
10群（魚介類）	16.15	20.23	38.21	12.67	17.03	17.21	22.76	22.87	30.79	10.43	11.26	19.14	7.69	7.90	18.17	12.02	14.94	20.04
11群（肉類・卵類）	0.06	0.10	0.10	2.01	4.76	5.78	2.31	3.40	4.42	0.01	0.02	0.13	0.01	0.01	0.09	0.09	0.56	9.09
12群（乳・乳製品）	0.01			0.01			0.01			0.01			0.01			0.01		
13群（調味料）	0.04			0.04			0.04			0.04			0.04			0.04		
14群（飲料水）	0.00			0.00			0.00			0.00			0.00			0.00		
総摂取量(pgTEQ/day)	16.43	20.55	38.53	14.90	22.01	23.21	25.29	26.49	35.43	10.67	11.50	19.48	7.92	8.14	18.48	12.33	15.72	29.35
摂取量(pgTEQ/kg bw/day)	0.33	0.41	0.77	0.30	0.44	0.46	0.51	0.53	0.71	0.21	0.23	0.39	0.16	0.16	0.37	0.25	0.31	0.59

食品群	中国・四国地区			九州地区			平均摂取量	標準偏差	比率（%）
1群（米、米加工品）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
2群（米以外の穀類、種実類、いも類）	0.02			0.02			0.02	0.00	0.09
3群（砂糖類、菓子類）	0.03			0.03			0.03	0.00	0.16
4群（油脂類）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.01
5群（豆・豆加工品）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.01
6群（果実、果汁）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
7群（緑黄色野菜）	0.03			0.03			0.03	0.00	0.15
8群（他の野菜類、キノコ類、海草類）	0.08			0.08			0.08	0.00	0.41
9群（酒類、嗜好飲料）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
	#1	#2	#3	#1	#2	#3			
10群（魚介類）	15.38	16.73	23.52	16.14	16.21	26.29	18.07	7.02	88.92
11群（肉類・卵類）	0.02	0.10	4.13	0.50	5.20	5.85	2.03	2.63	9.99
12群（乳・乳製品）	0.01			0.01			0.01	0.00	0.04
13群（調味料）	0.04			0.04			0.04	0.00	0.21
14群（飲料水）	0.00			0.00			0.00	0.00	0.00
総摂取量(pgTEQ/day)	15.62	17.05	27.87	16.86	21.62	32.36	20.33	8.26	100.00
摂取量(pgTEQ/kg bw/day)	0.31	0.34	0.56	0.34	0.43	0.65	0.41	0.17	

＊一部の地域（北海道及び東北地区、中国・四国及び九州地区）の食品群1～9、12～14群は共通試料を使用した。

＊＊食品群10及び11におけるダイオキシン類（PCDDs+PCDFs+Co-PCBs）摂取量（ND=0）の最小値の組み合わせを#1、中央値の組み合わせを#2、最大値の組み合わせを#3とした。

表 4 日本と主な諸外国の TD 調査によるダイオキシン類摂取量推定値

国	調査時期	ダイオキシン類摂取量 pg TEQ/kg bw/day	対象とした 年齢層	検出下限値 の取り扱い*	参考文献
日本（全国）	2024年度（令和6年度）	0.41	1歳以上	ND=0	本研究
日本（東京都）	2022年度（令和4年度）	0.44	1歳以上	ND=0	5）
イタリア	2019年度	0.35(男)、0.38(女)**	18-64.9歳	ND=0	6）
ベルギー	2008年	0.61	15歳以上	ND=LOD/2	7）
スペイン	2010-2011年	0.24 ** 0.16 **	6-15歳 >15歳	ND=0 ND=0	8）
中国	2010-2011年	0.73 ***	20-84歳	ND=LOD/2	9）
	2011年	0.59	18-45歳	ND=0	10）
イギリス	2011-2012年	0.52	19歳以上	ND=LOD	11）
オーストラリア	2017-2018年	0.21	2歳以上	ND=0	12）

* 検出（定量）下限値未満のダイオキシン類をゼロとして計算した場合はND=0、検出（定量）下限値の1/2を当てはめた場合はND=LOD/2、検出（定量）下限値を当てはめた場合はND=LODと示した。

** 原著では一週間あたりのDXNs摂取量が示されていたため、7日で除した値を一日摂取量として示した。

*** 原著では一ヶ月あたりのDXNs摂取量が示されていたため、30日で除した値を一日摂取量として示した。

表 5 新しい TEFs を使用したダイオキシン類摂取量（全国平均値）との比較

年度	ダイオキシン類摂取量 (pg TEQ/kg bw/day)	
	2005 WHO-TEFs	2022 WHO-TEFs
1998	1.8	1.1
1999	1.9	1.3
2000	1.2	0.88
2001	1.4	0.79
2002	1.3	0.73
2003	1.1	0.67
2004	1.2	0.71
2005	1.0	0.59
2006	0.90	0.52
2007	0.93	0.53
2008	0.92	0.52
2009	0.84	0.47
2010	0.81	0.46
2011	0.68	0.38
2012	0.69	0.40
2013	0.58	0.34
2014	0.69	0.41
2015	0.64	0.38
2016	0.54	0.33
2017	0.65	0.40
2018	0.51	0.30
2019	0.46	0.28
2020	0.40	0.24
2021	0.44	0.28
2022	0.42	0.27
2023	0.40	0.24
2024	0.41	0.25

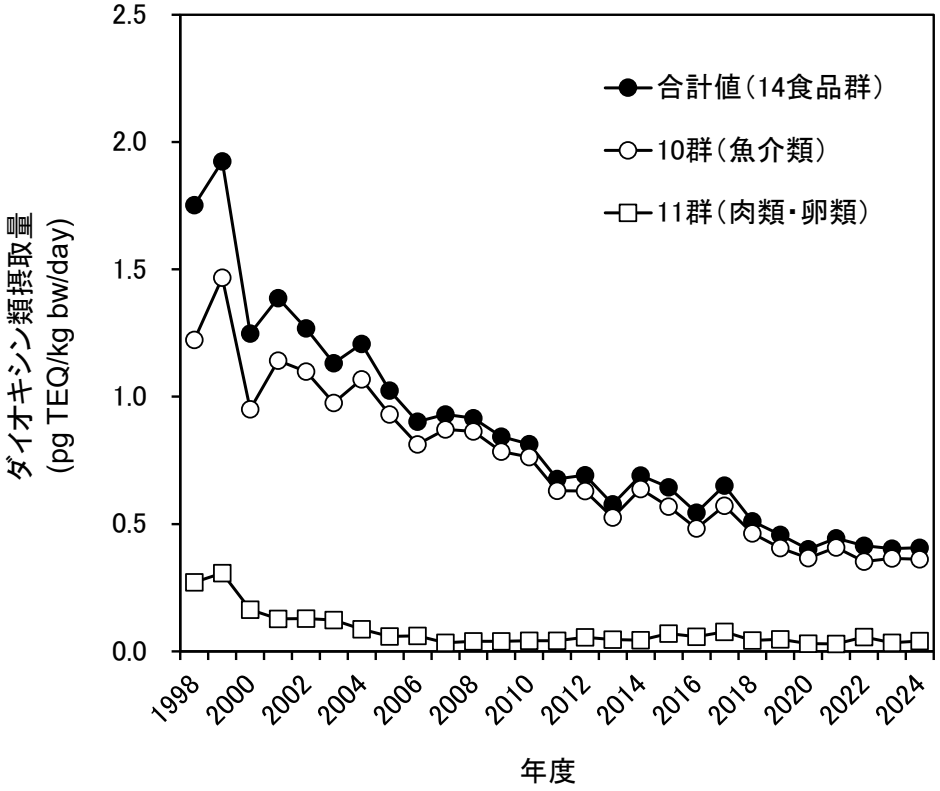


図 1 ダイオキシン類摂取量（全国平均値）の経年変化

付表 1 現行の TEFs と新しい TEFs

ダイオキシン類			2005 WHO-TEFs	2022 WHO-TEFs
PCDDs		2,3,7,8-TCDD	1	1
		1,2,3,7,8-PeCDD	1	0.4
		1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.09
		1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.07
		1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.05
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	0.05
		1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	0.0003	0.001
PCDFs		2,3,7,8-TCDF	0.1	0.07
		1,2,3,7,8-PeCDF	0.03	0.01
		2,3,4,7,8-PeCDF	0.3	0.1
		1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	0.3
		1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	0.09
		1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.2
		2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	0.02
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	0.1
		1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	0.0003	0.002
Co-PCBs	ノンオルトPCBs	3,3',4,4'-TCB(#77)	0.0001	0.0003
		3,4,4',5-TCB(#81)	0.0003	0.006
		3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.1	0.05
		3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.03	0.005
	モノオルトPCBs	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	0.00003	0.00003
		2,3,4,4',5-PeCB(#114)	0.00003	0.00003
		2,3',4,4',5-PeCB(#118)	0.00003	0.00003
		2',3,4,4',5-PeCB(#123)	0.00003	0.00003
		2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	0.00003	0.00003
		2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	0.00003	0.00003
		2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	0.00003	0.00003
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	0.00003	0.00003

Ⅱ．分担研究報告書

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

(1-2)トータルダイエット試料の分析によるポリ塩化ビフェニル摂取量推定

研究分担者　堤　智昭

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 （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のための研究

分担研究報告書

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究
(1-2)トータルダイエット試料の分析によるポリ塩化ビフェニル摂取量推定

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

2024年度に作製したマーケットバスケット方式によるトータルダイエット(TD)試料を用いて、ポリ塩化ビフェニル(PCBs)の国民平均一日摂取量を推定した。国民健康・栄養調査による地域別の平均食品摂取量に基づいて食品を購入し、TD試料を全国10地域で調製した。過去の研究からPCBs摂取量に占める割合の高い食品群である10群(魚介類)と11群(肉類、卵類)のみを対象にPCBs異性体分析を実施した。その結果、総PCBsの全国平均摂取量は、250 ng/person/dayと推定された。体重(50 kgと仮定)あたりでは5.0 ng/kg bw/dayと推定され、この値は日本の暫定一日摂取許容量の0.1%程度であった。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耐容一日摂取量(TDI)と比較しても低い値であったが、WHOのTDIの25%程度に相当した。さらに、リスク評価の為の情報が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230 ng/person/day(体重50 kgで除した場合、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80 ng/person/day(体重50 kgで除した場合、1.6 ng/kg bw/day)と推定された。NDL-PCBsについてはTDIが定まっていないため、代表的なNDL-PCBs異性体(PCB 28, 52, 128, 153, 180)の毒性データを用いてばく露マージンを計算した。その結果、これらの異性体に対するばく露マージンは10,672～764,062と十分に大きかった。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所
　高附 巧、張 天斉、鍋師裕美
北海道立衛生研究所
　青柳直樹、市橋大山、吉田優也
新潟県保健環境科学研究所
　五井　千尋
横浜市衛生研究所
　石井敬子、前川ゆずは、森田昌弘
名古屋市衛生研究所
　野口昭一郎、高木恭子、宮﨑仁志
和歌山県環境衛生研究センター
　新宅沙織
香川県環境保健研究センター
　安永 恵、櫻井 麻里南
沖縄県衛生環境研究所
　仲眞弘樹
福岡県保健環境研究所
　中村麻子、新谷依子、堀 就英

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」[1)]の中で、ポリ塩化ビフェニル

(PCBs)の一日摂取許容量(ADI)が暫定値として示されている。トータルダイエット(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 摂取量を推定するため、本年度も昨年度に引き続き、全国 10 地域において日本人の平均的な食品摂取に基づいた TD 試料を調製し、試料中の PCBs を分析し、一日摂取量を推定した。TD 試料の調製には、地方自治体所管の衛生研究所等にご協力を頂いた。

また PCBs はその毒性学的性質からダイオキシン様PCBs(Co-PCBsとも呼ばれる)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異性体についてはポリ塩化ジベンゾ-*p*-ジオキシン/ポリ塩化ジベンゾフラン(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耐容一日摂取量(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。本分担研究ではリスク評価に資する情報を提供するため、平成28年度よりNDL-PCBsの摂取量についても推定している。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. TD 試料

国民平均の PCBs 摂取量を推定するための 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 29 年～令和元年(2017～2019 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(計 13 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。作製した試料は、分析に供すまで-20℃で保存した。

2. PCBs 分析

2-1.試薬

クリーンアップスパイク標準溶液は、(株)ウェリントンラボラトリージャパンより TPCB-LCS-A500 を購入した。シリンジスパイク標準溶液は、(株)ウェリントンラボラトリージャパンより TPCB-IS-A-STK を購入した。検量線用 PCBs 標準溶液は、(株)ウェリントンラボラトリージャパンより TPCB-CVS-A を購入した。209 異性体確認用標準溶液は、M-1668A-1-0.01X、M-1668A-2-0.01X、M-1668A-3-0.01X、M-1668A-4-0.01X、M-1668A-5-0.01X(富士フイルム和光純薬工業株式会社)を等容量混合したものを使用した。

アセトン(ダイオキシン類分析用)、エタノール(ダイオキシン類分析用)、ジクロロメタン(ダイオキシン類分析用)、水酸化カリウム(特級)、ヘキサン(ダイオキシン類分析用)、無水硫酸ナトリウム(PCB分析用)、アルミナは関東化学(株)より購入した。ノナン(ダイオキシン類分析用)、濃硫酸(特級)、塩化ナトリウム(特級)は富士フイルム和光純薬(株)より購入した。水は、Milli-Q IQ7005 環境分析タイプから採取した超純水をヘキサンで洗浄し使用した。

多層シリカゲルカラム(内径 15 mm、長さ 9.5 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 3.0 g、シリカゲル 0.9 g、及び無水硫酸ナトリウム 2 g 順次充填)は、ジーエルサイエンス(株)より購入した。アルミナカ

ラムは、内径 15 mm、長さ 30 cm 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は、トレイジャンサイエンティフィック製の HT8-PCB を使用した。

2-2.機器

GC: 7890B GC System (Agilent Technologies)
MS: MStation JMS-800D UltraFOCUS (日本電子(株)社製)

2-3. 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 40 µL 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、スターラーで撹拌した。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、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルをヘキサン 100 mL で洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサン 50 mL で溶出した。溶出液は溶媒を留去し、約 2 mL のヘキサンに溶解した。ヘキサンで湿式充填したアルミナカラムに試験溶液を注入し、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。溶媒を留去し、シリンジスパイク 100 µL を加え、GC/MS 試験溶液とした。

2-4. 高分解能 GC/MS 測定条件

GC カラム:HT8-PCB(トレイジャンサイエンティフィック) 内径 0.25 mm×60 m
注入方式:スプリットレス
注入口温度:280℃
注入量:2.0 µL
昇温条件:100℃(1 分保持)-20℃/分-180℃-2℃/分-260℃-5℃/分- 300℃(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℃
イオン源温度:290℃
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
モニターイオン:

一塩化ビフェニル モノクロロビフェニル(MoCBs)
定量用イオン: *m/z* 188.0393, 確認イオン:*m/z* 190.0364

二塩化ビフェニル ジクロロビフェニル(DiCBs)
定量用イオン:*m/z* 222.0003, 確認イオン:*m/z*-223.9974

三塩化ビフェニル トリクロロビフェニル(TrCBs)
定量用イオン:*m/z* 255.9613, 確認イオン:*m/z* 257.9587

四塩化ビフェニル テトラクロロビフェニル(TeCBs)
定量用イオン:*m/z* 289.9224, 確認イオン:*m/z* 291.9195

五塩化ビフェニル ペンタクロロビフェニル(PeCBs)
定量用イオン:*m/z* 323.8834, 確認イオン:*m/z* 325.8805

六塩化ビフェニル ヘキサクロロビフェニル(HxCBs)
定量用イオン:*m/z* 359.8415, 確認イオン:*m/z* 361.8386

七塩化ビフェニル ヘプタクロロビフェニル(HpCBs)
定量用イオン:*m/z* 393.8025, 確認イオン:*m/z* 395.7996

八塩化ビフェニル オクタクロロビフェニル(OcCBs)
定量用イオン:*m/z* 427.7636, 確認イオン:*m/z* 429.7606

九塩化ビフェニル ノナクロロビフェニル(NoCBs)
定量用イオン:*m/z* 461.7246, 確認イオン:*m/z* 463.7216

十塩化ビフェニル デカクロロビフェニル(DeCB)
定量用イオン:*m/z* 497.6826, 確認イオン:*m/z* 499.6797

$^{13}C_{12}$ 標識 MoCBs
定量用イオン:*m/z* 200.0795, 確認イオン:*m/z* 202.0766

$^{13}C_{12}$ 標識 DiCBs
定量用イオン:*m/z* 234.0406, 確認イオン:*m/z* 236.0376

$^{13}C_{12}$ 標識 TrCBs

定量用イオン:*m/z* 268.0016, 確認イオン:*m/z* 269.9986

$^{13}C_{12}$標識 TeCBs

定量用イオン:*m/z* 301.9626, 確認イオン:*m/z* 303.9597

$^{13}C_{12}$標識 PeCBs

定量用イオン:*m/z* 335.9237, 確認イオン:*m/z* 337.9207

$^{13}C_{12}$標識 HxCBs

定量用イオン:*m/z* 371.8817, 確認イオン:*m/z* 373.8788

$^{13}C_{12}$標識 HpCBs

定量用イオン:*m/z* 405.8428, 確認イオン:*m/z* 407.8398

$^{13}C_{12}$標識 OcCBs

定量用イオン:*m/z* 439.8038, 確認イオン:*m/z* 441.8008

$^{13}C_{12}$標識 NoCBs

定量用イオン:*m/z* 473.7648, 確認イオン:*m/z* 475.7619

$^{13}C_{12}$標識 DeCB

定量用イオン:*m/z* 509.7229, 確認イオン:*m/z* 511.7199

2-5. 検量線の作成

相対感度係数法により検量線を作成した。検量線作成用標準液(6 点)に対して3 回測定を実施し、計 18 点の測定データを得た。各測定データについて、各分析対象物質とそれに対応するクリーンアップスパイクとの相対感度係数(RRF)、及びクリーンアップスパイクとそれに対応するシリンジスパイクの相対感度係数(RRFss)を算出した。検量線作成用標準液に含まれる分析対象物質の内、同一の化学構造のクリーンアップスパイクがない分析対象物質については、同一塩素数に含まれるクリーンアップスパイクの平均の面積値を使用して RRF を算出した。検量線作成時の測定データにおける RRF 及び RRFss の変動係数は 15%以内を目標とした。

2-6. 検出下限値及び定量下限値

最低濃度の検量線作成用標準液を 5 倍に希釈した標準溶液を GC/MS により分析し、S/N=3 に相当する濃度を検出下限値(LOD)、S/N=10 に相当する濃度を定量下限値(LOQ)として求めた。標準溶液に含まれていない PCBs 異性体については、同一塩素数に含まれる PCBs 異性体の平均の S/N を使用して LOD 及び LOQ を求めた。また、操作ブランク試験を 5 回行い、ブランクが認められる分析対象物については、ブランクの標準偏差の 3 倍を LOD、10 倍を LOQ として求めた。S/N から算出した値と比較し、大きい方を LOD、又は LOQ とした。本分析法の各 PCBs 異性体の LOD と LOQ を表 1 に示した。

2-7. 試験溶液の測定

試験溶液の測定開始時には 3 濃度の検量線作成用標準液を測定して、RRF 及び RRFss を求めた。これらの値が、検量線作成時の RRF 及び RRFss と比較し、±15%以内であることを確認した。検量線作成時の RRF 及び RRFss を用いて、試験溶液に含まれる各 PCBs を定量した。試験溶液より得られた分析対象物質のシグナルが検量線作成用標準液の範囲外となった場合は、外挿により定量値を算出した。操作ブランク値が認められた PCBs 異性体は、操作ブランク値を差し引いた。なお、検量線作成用標準液に含まれない PCBs 異性体の溶出位置は、209 全異性体を含む PCBs 標準溶液を使用して決定した。

2-8. 分析対象とした PCBs 異性体

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(197 異性体)の合計値とした。

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ことから、本研究では PCB 52 のピークとして取り扱った。

2-9. 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。平成 25 年度より高分解能 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る。今年度の PCBs 摂取量についても、ND となった異性体に LOD の 1/2 の異性体濃度をあてはめて全国平均値を推定しても、ND=0 として計算した全国平均値と 1%未満の差しか生じなかった。

C. 研究結果及び考察

1)PCBs 摂取量の推定

全 10 地域で調製した 10 群及び 11 群の分析結果から推定した PCBs 摂取量を表 2 及び表 3 に示した。表には各地域における同族体ごとの PCBs 摂取量と、それらの合計となる総 PCBs 摂取量を示した。10 群からの総 PCBs 摂取量は 132～393 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 238 ng/person/day であった。また、11 群からの総 PCBs 摂取量は 4.4～43 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 13 ng/person/day であった。昨年度の 10 群からの総 PCBs 摂取量の全国平均値は 256 ng/person/day、11 群からの総 PCBs 摂取量の全国平均値は 13 ng/person/day であった[2)]。昨年度と比較すると、今年度の 10 群の総 PCBs 摂取量の全国平均値はやや低かったが、11 群の総 PCBs 摂取量の全国平均値は同程度であった。今年度は 10 群については地域 A、11 群については地域 C で総 PCBs 摂取量の最大値が推定され、昨年度の最大値と比較すると、10 群ではほぼ同程度、11 群では約 1.6 倍であった。

また、10 群と 11 群からの総 PCBs 摂取量について、同族体毎の割合を図 1 と図 2 に示した。10 群については、TD 試料を作製した地域によらず同族体の割合はよく似ていた。4 塩素～7 塩素の PCBs が主要であり、これらの合計で全体の 90%以上を占めていた。カネクロール(KC)の中でも、KC-400、KC-500、KC-600 の同族体割合は 4 塩素～7 塩素化 PCBs が主体であり、10 群の同族体割合はこれらの混合物の同族体割合とよく似ていた。11 群についても、TD 試料を作製した地域によらず同族体の割合に大きな違いは認められなかったが、10 群と比較すると低塩素 PCBs(1 塩素～3 塩素)の割合がやや高い地域があった(地域 A 及び地域 G 等)。低塩素 PCBs は KC-300 や排ガスなどで割合が高い PCBs であり、これらの汚染の関与が疑われた。

10 群と 11 群からの PCBs 摂取量の合計値を表 4 に示した。総 PCBs 摂取量は 141～398 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 250 ng/person/day であった。昨年度の総 PCBs 摂取量の全国平均値は 270 ng/person/day であり[2)]、今年度の総 PCBs 摂取量は昨年度と比較してやや低い値であった。現在、日本では PCBs に暫定 ADI(5 μg/kg bw/day)が示されている。本研究で推定された総 PCBs 摂取量の全国平均値は 250 ng/person/day であり、体重(50 kg と仮定)あたりでは 5.0 ng/kg bw/day であった。この値は暫定 ADI の僅か 0.1%程度であった。一見すると総 PCBs の摂取量は十分に小さいと考えられるが、暫定 ADI 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 等の健康影響に基づく指標値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)[3)]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%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[4)]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留意が必要である。

本年度までの総 PCBs 摂取量の全国平均値の経年推移を、図 3 に示した。2023 年度までの調査結果は、昨年度の本事業の報告書「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のための研究」[2)]から引用した。総 PCBs 摂取量は 1990 年代前半までに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 年代前半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。本年度の総 PCBs 摂取量の全国平均値は、調査開始以来、2 番目に低い値であった。調査開始時の総 PCBs 摂取量と比較すると、本年度の総 PCBs 摂取量は 1/13 程度であった。

2) NDL-PCBs 摂取量の推定

各地域の TD 試料の分析結果より推定した NDL-PCBs 摂取量を表 5 に示した。また、NDL-PCBs 摂取量の指標異性体として欧州等で使用されている 6 PCBs の摂取量についてもあわせて表 5 に示した。10 群からの NDL-PCBs 摂取量は 120～357 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 219 ng/person/day であった。11 群からの NDL-PCBs 摂取量は 3.9～37 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 11 ng/person/day であった。また、10 群と 11 群からの摂取量を合計した NDL-PCBs 摂取量は、129～361 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 230 ng/person/day(体重 50 kg で除した場合、4.6 ng/kg bw/day)であった。10 群と 11 群からの総 PCBs 摂取量の全国平均値は 250 ng/person/day であることから、NDL-PCBs は総 PCBs 摂取量の 92%程度を占めていた。この傾向は昨年度の調査結果 [2)]と同様であった。

NDL-PCBs の指標異性体として用いられる 6PCBs の 10 群からの摂取量は 40～125 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 75 ng/person/day であった。11 群からの摂取量は 1.5～18 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 4.8 ng/person/day であった。また、10 群と 11 群からの摂取量を合計した 6PCBs 摂取量は、44～126 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 80 ng/person/day(体重 50 kg で除した場合、1.6 ng/kg bw/day)であった。

NDL-PCBs については TDI 等の健康影響に基づく指標値が定まっていないため、代表的な NDL-PCBs 異性体(PCB 28, 52, 128, 153, 180)の毒性データを用いて、ばく露マージンを計算した。ばく露マージンの計算は、各異性体の最小毒性量(minimal effect dose)[5, 6)]を、各異性体の摂取量(全国平均値)で除した。各異性体のばく露マージンは 10,672～764,062 であった(表 6)。NDL-PCBs は非遺伝毒性発がん物質と考えられるため、一般的にはばく露マージンが 100 以上であれば健康への懸念が低くリスク管理の優先度が低いと考えられる。いずれの異性体のばく露マージンも 100 を大きく上回っていた。

3) 国内外の PCBs 摂取量調査との比較

日本と主な諸外国で実施された PCBs 摂取量調査の結果を表 7 に示した。日本国内では本調査の他に、東京都が実施している PCBs 摂取量調査の報告がある。東京都における 2023 年度の PCBs 摂取量は 5.2 ng/kg bw/day と報告 [7)]されており、本調査の結果と近い値であった。また、本研究の結果は、主な諸外国で報告されている PCBs 摂取量 [8～12)]の範囲内であり、特に高いことはなかった。

また、表 8 には 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、日本と主な諸外国の調査結果を示した。日本の調査結果については、本調査の結果を示した。日本の

6PCBs 摂取量は 1.6 ng/kg bw/day であり、諸外国で報告されている 6PCBs 摂取量 [6, 13~17]の範囲内であった。

D. 結論

全国 10 地区で調製した TD 試料(10 群及び 11 群)による PCBs の摂取量調査を実施した結果、総 PCBs 一日摂取量の全国平均値は 250 ng/person/day と推定された。体重あたりでは 5.0 ng/kg bw/day と推定され、この値は日本の暫定 ADI の僅か 0.1%程度であった。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%となった。NDL-PCBs の一日摂取量の全国平均値は 230 ng/person/day と推定され、その指標異性体である 6PCBs 摂取量の全国平均値は 80 ng/person/day と推定された。代表的な NDL-PCBs 異性体(PCB 28, 52, 128, 153, 180)の毒性データを用いてばく露マージンを計算した結果、これらの異性体に対するばく露マージンは 10,672～764,062 と十分に大きかった。

E. 参考文献

1) 厚生省環境衛生局長通知“食品中に残留する PCB の規制について”昭和 47 年 8 月 24 日,環食第 442 号(1972)
2) 令和 5 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 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のための研究」分担研究報告書(食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究)
3) WHO, 2003. Concise International Chemical Assessment Document 55. Polychlorinated biphenyls: human health aspects.
4) 令和 5 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 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のための研究」分担研究報告書(食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究)
5) WHO 2016. Safety evaluation of certain food additives and contaminants, supplement 1: non-dioxin-like polychlorinated biphenyls, prepared by the eightieth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). (WHO food additives series; 71-S1). Geneva: World Health Organization. https://apps.who.int/iris/handle/10665/246225.
6) Food Standards Australia New Zealand. (2020) The 26th Australian total diet study. https://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/26th%20ATDS%20report.pdf
7) 東京都保健医療局健康安全部環境保健衛生課, 令和 5 度 食事由来の化学物質等摂取量推計調査, https://www.hokeniryo.metro.tokyo.lg.jp/documents/d/hokeniryo/5shokuji
8) Voorspoels S, Covaci A, Neels H. : Dietary PCB intake in Belgium, Environ. Toxicol. Pharmacol. 25, 179-182 (2008)
9) Schecter A, Colacino J, Haffner D, Patel K, Opel M, Päpke O, Birnbaum L. : Perfluorinated compounds, polychlorinated biphenyls, and organochlorine pesticide contamination in composite food samples from Dallas, Texas, USA, Environ. Health Perspect. 118, 796-802 (2010)
10) Fromberg A, Granby K, Højgård A, Fagt S, Larsen JC. : Estimation of dietary intake of

PCB and organochlorine pesticides for children and adults, Food Chem. 125, 1179-1187 (2011)
11) Törnkvist A, Glynn A, Aune M, Darnerud PO, Ankarberg EH. : PCDD/F, PCB, PBDE, HBCD and chlorinated pesticides in a Swedish market basket from 2005-levels and dietary intake estimations, Chemosphere. 83, 193-199 (2011)
12) Shin ES, Nguyen KH, Kim J, Kim CI, Chang, YS. : Progressive risk assessment of polychlorinated biphenyls through a Total Diet Study in the Korean population, Environ. Pollut. 207, 403-412 (2015)
13) Fattore E, Fanelli R, Dellatte E, Turrini A, di Domenico A. : Assessment of the dietary exposure to non-dioxin-like PCBs of the Italian general population, Chemosphere. 73, S278-S283 (2008)
14) Sirot V, Tard A, Venisseau A, Brosseaud A, Marchand P, Le Bizec B, Leblanc JC. : Dietary exposure to polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated biphenyls of the French population: Results of the second French Total Diet Study, Chemosphere. 88, 492-500 (2012)
15) Cimenci O, Vandevijvere S, Goscinny S, Van Den Bergh MA, Hanot V, Vinkx C, Bolle F, Van Loco J. : Dietary exposure of the Belgian adult population to non-dioxin-like PCBs, Food Chem. Toxicol. 59, 670-679 (2013)
16) Mihats D, Moche W, Prean M, Rauscher-Gabernig E. : Dietary exposure to non-dioxin-like PCBs of different population groups in Austria, Chemosphere. 126, 53-59 (2015)
17) Chung SWC, Lau JSY, Chu JYK.: Dietary exposure to non-dioxin-like PCBs of the Hong Kong adult population from a total diet study, Food Addit. Contam. Part A. 35, 519-528 (2018)

F.研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

表1 本分析法の検出下限値及び定量下限値

PCBs		LOD, ng/g	LOQ, ng/g
MoCB	#1	0.00015	0.00050
	#2	0.00010	0.00034
	#3	0.00011	0.00038
DiCB	#4	0.00044	0.00146
	#6	0.00006	0.00020
	#7	0.00002	0.00006
	#8/#5	0.00048	0.00160
	#9	0.00002	0.00006
	#10	0.00002	0.00005
	#11	0.00103	0.00342
	#13/#12	0.00002	0.00006
	#14	0.00002	0.00006
	#15	0.00014	0.00048
TrCB	#16	0.00010	0.00034
	#17	0.00016	0.00052
	#18	0.00052	0.00175
	#19	0.00003	0.00011
	#20/#33	0.00033	0.00111
	#21	0.00003	0.00011
	#22	0.00015	0.00050
	#23	0.00003	0.00011
	#24	0.00003	0.00011
	#25	0.00003	0.00011
	#26	0.00007	0.00024
	#27	0.00003	0.00011
	#28	0.00039	0.00128
	#29	0.00003	0.00011
	#30	0.00003	0.00011
	#31	0.00031	0.00105
	#32	0.00014	0.00047
	#34	0.00003	0.00011
	#35	0.00004	0.00012
	#36	0.00003	0.00011
	#37	0.00015	0.00051
	#38	0.00004	0.00013
	#39	0.00003	0.00011
TrCB	#40	0.00002	0.00006
	#41	0.00002	0.00006
	#42	0.00002	0.00006
	#43/#49	0.00012	0.00040
	#44	0.00011	0.00038
	#45	0.00002	0.00006
	#46	0.00002	0.00006
	#50	0.00002	0.00006
	#51	0.00002	0.00006
	#52/#69	0.00026	0.00086
	#53	0.00002	0.00006
	#54	0.00001	0.00004
	#55	0.00002	0.00006
	#56	0.00007	0.00024
	#57	0.00001	0.00004
	#59	0.00002	0.00006
	#60	0.00005	0.00015
	#61	0.00002	0.00006
	#62	0.00002	0.00006
	#63/#58	0.00002	0.00006
	#64	0.00006	0.00021
	#65/#75/#48/#47	0.00027	0.00090
	#67	0.00002	0.00006
	#68	0.00002	0.00006
	#70	0.00009	0.00030
	#72/#71	0.00002	0.00006
	#73	0.00002	0.00006
	#74	0.00007	0.00023
	#76	0.00002	0.00006
	#77	0.00004	0.00013
	#78	0.00002	0.00006
	#79	0.00002	0.00007
	#80/#66	0.00018	0.00059
	#81	0.00002	0.00007
PeCB	#82	0.00002	0.00006
	#83	0.00002	0.00006
	#84/#92	0.00002	0.00006
	#85	0.00002	0.00006
	#86/#117/#97	0.00002	0.00006
	#87/#115	0.00004	0.00012
	#88	0.00002	0.00006
	#89	0.00002	0.00006
	#90	0.00002	0.00006
	#91	0.00002	0.00006
	#94	0.00002	0.00006
	#96	0.00002	0.00006
	#98/#95	0.00004	0.00013
	#99	0.00004	0.00014
	#100	0.00002	0.00006
	#101	0.00003	0.00010
	#102/#93	0.00002	0.00006
	#103	0.00002	0.00006
	#104	0.00002	0.00008
	#105	0.00008	0.00028
	#106	0.00002	0.00006
	#108	0.00002	0.00006
	#109/#107	0.00002	0.00006
	#110/#120	0.00010	0.00034
	#111	0.00002	0.00006
	#112/#119	0.00002	0.00006
	#113	0.00002	0.00006
	#114	0.00004	0.00014
	#118	0.00013	0.00044
	#121	0.00002	0.00006
	#122	0.00002	0.00006
	#123	0.00004	0.00012
	#124	0.00002	0.00006
	#125/#116	0.00002	0.00006
	#126	0.00004	0.00015
	#127	0.00002	0.00006

PCBs		LOD, ng/g	LOQ, ng/g
HxCB	#128	0.00002	0.00008
	#129	0.00002	0.00008
	#130	0.00002	0.00008
	#131	0.00002	0.00008
	#133	0.00002	0.00008
	#134	0.00002	0.00008
	#135	0.00002	0.00008
	#136	0.00002	0.00008
	#137	0.00002	0.00008
	#138	0.00011	0.00038
	#140	0.00002	0.00008
	#141	0.00002	0.00008
	#142	0.00002	0.00008
	#143	0.00002	0.00008
	#144	0.00002	0.00008
	#145	0.00002	0.00008
	#146/#132	0.00002	0.00008
	#147	0.00002	0.00008
	#148	0.00002	0.00008
	#149/#139	0.00002	0.00008
	#150	0.00002	0.00008
	#151	0.00002	0.00008
	#152	0.00002	0.00008
	#153	0.00007	0.00025
	#154	0.00002	0.00008
	#155	0.00001	0.00005
	#156	0.00002	0.00007
	#157	0.00002	0.00008
	#158	0.00002	0.00008
	#159	0.00002	0.00008
	#160	0.00002	0.00008
	#161	0.00002	0.00008
	#162	0.00002	0.00008
	#164/#163	0.00002	0.00008
	#165	0.00002	0.00008
	#166	0.00002	0.00008
	#167	0.00002	0.00007
	#168	0.00002	0.00008
	#169	0.00003	0.00010
HpCB	#170	0.00006	0.00019
	#171	0.00005	0.00016
	#172	0.00005	0.00016
	#173	0.00005	0.00016
	#174	0.00005	0.00016
	#175	0.00005	0.00016
	#176	0.00005	0.00016
	#177	0.00005	0.00016
	#178	0.00005	0.00016
	#179	0.00005	0.00016
	#180	0.00005	0.00018
	#181	0.00005	0.00016
	#182/#187	0.00005	0.00017
	#183	0.00005	0.00016
	#184	0.00005	0.00016
	#185	0.00005	0.00016
	#186	0.00005	0.00016
	#188	0.00004	0.00012
	#189	0.00004	0.00015
	#190	0.00005	0.00016
	#191	0.00005	0.00016
	#192	0.00005	0.00016
	#193	0.00005	0.00016
OcCB	#194	0.00004	0.00012
	#195	0.00002	0.00008
	#196	0.00002	0.00005
	#197	0.00002	0.00005
	#198	0.00002	0.00005
	#199	0.00002	0.00005
	#200	0.00002	0.00005
	#201	0.00002	0.00005
	#202	0.00001	0.00003
	#203	0.00001	0.00005
	#204	0.00002	0.00005
	#205	0.00001	0.00005
NoCB	#206	0.00002	0.00008
	#207	0.00002	0.00007
	#208	0.00002	0.00007
DeCB	#209	0.00005	0.00016

表 2　10 群からの PCBs 摂取量

(ng/person/day)

PCBs	地域										平均値
同族体	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
MoCBs	0.14	0.15	0.10	0.11	0.14	1.6	0.10	0.16	0.15	0.21	0.29
DiCBs	1.3	1.3	1.9	1.0	0.95	3.7	1.2	0.92	1.1	4.6	1.8
TrCBs	18	10	8.5	7.1	5.7	10	6.3	5.8	7.7	8.2	8.7
TeCBs	70	39	33	24	24	42	24	31	34	33	35
PeCBs	131	64	78	40	40	84	42	68	64	64	67
HxCBs	131	70	110	44	54	134	50	108	79	90	87
HpCBs	36	21	31	13	19	59	17	45	26	32	30
OcCBs	5.0	4.2	3.9	2.6	3.7	14	2.8	11	4.1	7.2	5.8
NoCBs	0.72	0.52	0.49	0.38	0.46	1.2	0.38	3.4	0.51	0.76	0.88
DeCB	0.40	0.30	0.28	0.22	0.23	0.49	0.29	1.5	0.25	0.24	0.42
総PCBs	393	211	267	132	148	349	144	274	217	241	238

表 3　11 群からの PCBs 摂取量

(ng/person/day)

PCBs	地域										平均値
同族体	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
MoCBs	0.027	0.10	0.016	0.057	0.048	0.12	0.12	0.052	0.20	0.013	0.075
DiCBs	0.16	0.32	0.44	0.011	0.033	0.51	0.40	0.26	0.016	0.33	0.25
TrCBs	0.30	0.21	0.50	0.09	0.12	0.29	0.15	0.14	0.15	0.36	0.23
TeCBs	0.67	1.3	2.8	0.77	0.54	1.6	0.84	1.0	0.67	0.88	1.1
PeCBs	1.0	3.2	9.4	2.4	1.4	3.1	1.6	2.2	1.5	1.7	2.8
HxCBs	1.5	6.3	21	4.2	2.4	6.6	3.0	2.5	3.1	3.9	5.4
HpCBs	0.57	2.8	7.3	1.3	1.1	3.2	1.3	1.0	1.3	2.6	2.2
OcCBs	0.14	0.59	1.4	0.26	0.22	0.73	0.23	0.22	0.28	0.74	0.48
NoCBs	0.030	0.13	0.20	0.050	0.033	0.17	0.051	0.044	0.060	0.082	0.085
DeCB	0.0095	0.067	0.081	0.021	0.023	0.072	0.041	0.025	0.034	0.024	0.040
総PCBs	4.4	15	43	9.1	5.9	16	7.7	7.3	7.3	11	13

表 4　10 群と 11 群からの PCBs 摂取量の合計値

(ng/person/day)

PCBs	地域										平均値
同族体	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
MoCBs	0.16	0.26	0.12	0.17	0.19	1.7	0.22	0.21	0.35	0.22	0.36
DiCBs	1.5	1.6	2.3	1.0	1.0	4.2	1.6	1.2	1.1	4.9	2.0
TrCBs	18	10	9.0	7.2	5.8	11	6.5	5.9	7.9	8.6	9.0
TeCBs	70	41	36	25	24	44	25	32	34	34	37
PeCBs	132	67	88	42	41	87	44	70	66	65	70
HxCBs	133	76	130	48	56	140	53	110	82	94	92
HpCBs	37	24	38	14	21	62	18	46	27	35	32
OcCBs	5.1	4.8	5.3	2.9	3.9	14	3.0	11	4.4	8.0	6.3
NoCBs	0.75	0.64	0.69	0.43	0.49	1.3	0.43	3.4	0.57	0.84	1.0
DeCB	0.41	0.37	0.36	0.24	0.25	0.56	0.33	1.5	0.29	0.27	0.46
総PCBs	398	226	310	141	154	366	152	282	224	252	250

表 5　10 群と 11 群試料からの 6PCBs 及び NDL-PCBs 摂取量

(ng/person/day)

食品群	PCBs	地域										平均値
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
10群	6PCBs	125	65	86	40	46	112	46	84	69	75	75
	NDL-PCBs	357	193	246	120	136	327	132	255	199	223	219
11群	6PCBs	1.5	5.6	18	3.6	2.1	5.6	2.7	2.4	2.9	4.3	4.8
	NDL-PCBs	3.9	14	37	8.2	5.2	15	7.0	6.6	6.5	9.6	11
10群と11群	6PCBs	126	71	104	44	48	118	49	87	72	79	80
の合計	NDL-PCBs	361	206	283	129	142	341	139	262	206	232	230

表 6　主要な NDL-PCBs 異性体のばく露マージン

NDL-PCBs	最小毒性量* (μg/kg体重/日)	一日摂取量 (ng/kg体重/日)	ばく露マージン (MOE)
PCB 28	2.8	0.058	48,032
PCB 52	107	0.14	764,062
PCB 128	4.2	0.039	106,332
PCB 153	7.0	0.66	10,672
PCB 180	107	0.16	677,500

*参考文献5, 6

表 7　日本と主な諸外国における食品からの PCBs 摂取量

国	調査時期*	対象年齢	PCBs平均摂取量 ng/kg bw/day(ng/day)	検出（定量）下限値の取り扱い	測定対象	参考文献
日本（全国）	2024年度(令和6年度)	1歳以上	5.0（250）	<LOD=0	209異性体	本研究
日本（東京都）	2023年度(令和5年度)	1歳以上	5.2（260）	<LOQ=0	－ **	7)
ベルギー	2005年	－	－(404) －(535)	<LOQ=0 <LOQ=LOQ	23異性体	8)
アメリカ	2009年	－	－(33)	<LOD=0	7異性体	9)
デンマーク	1998-2003年	4-14歳 15-75歳	24.9（－） 12.6（－）	<LOD=1/3LOD	10異性体	10)
スウェーデン	2005年	17-79歳	4.9（362）	<LOQ=1/2LOQ	28異性体	11)
韓国	2008-2011年	19歳以上	3.94（－）	－	62異性体	12)

*食品試料を集めた時期
**未掲載

表 8　日本と主な諸外国における食品からの 6PCBs 摂取量

国	調査時期*	対象年齢	6指標異性体の平均摂取量 ng/kg bw/day	検出（定量）下限値の取り扱い	参考文献
日本	2024年度(令和6年度)	1歳以上	1.6	<LOD=0	本研究
イタリア	1994-1996年	0.5-6歳 7-12歳 13-94歳	24.6 16.1 10.9	<LOQ=LOQ	13)
フランス	2005年、2007年	3-17歳 18-79歳	3.77 2.71	<LOD(LOQ)=1/2LOD(LOQ)	14)
ベルギー	2008年	15歳以上	5.33	<LOQ=0	15)
オーストリア	2006-2011年	6-15歳 19-65歳女性 19-65歳男性	3.37 3.19 2.64	－**	16)
香港	2010-2011年	20-84歳	0.68 1.38	<LOD=0 <LOD=LOD	17)
オーストラリア	2017-2018年	2歳以上	0.1 8 16	<LOR=0 <LOR=1/2LOR <LOR=LOR	6)

*食品試料を集めた時期
**未掲載

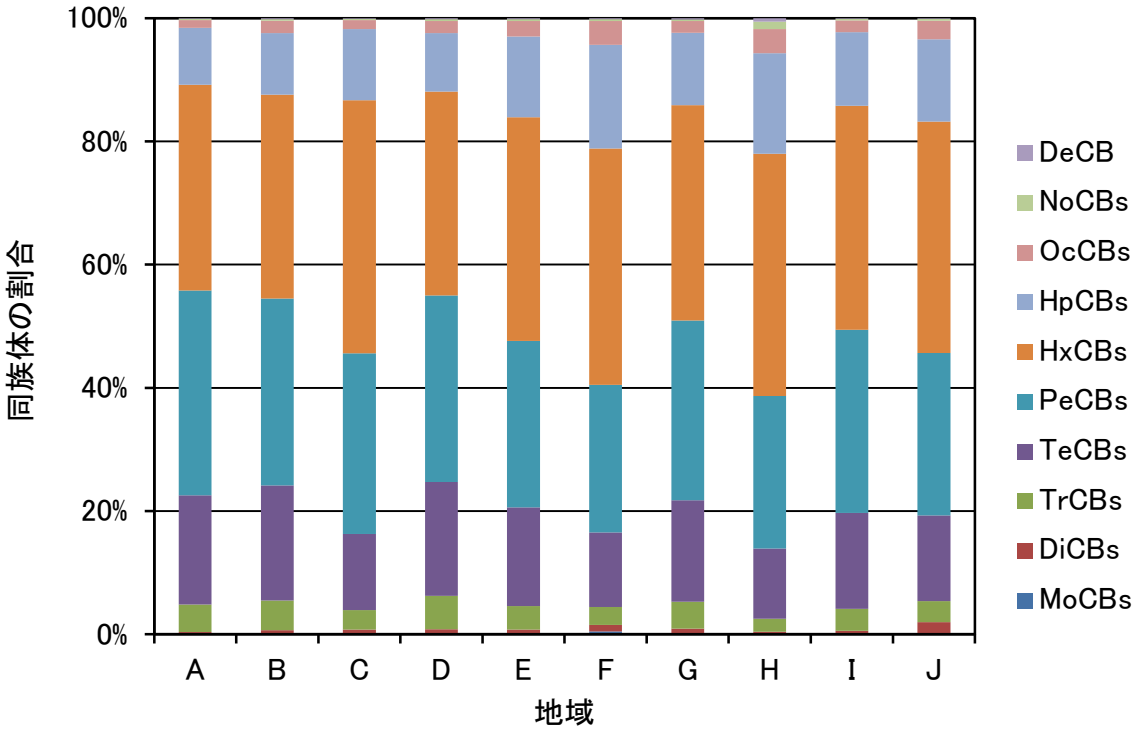


図 1　10 群からの PCBs 摂取量における PCBs 同族体の割合

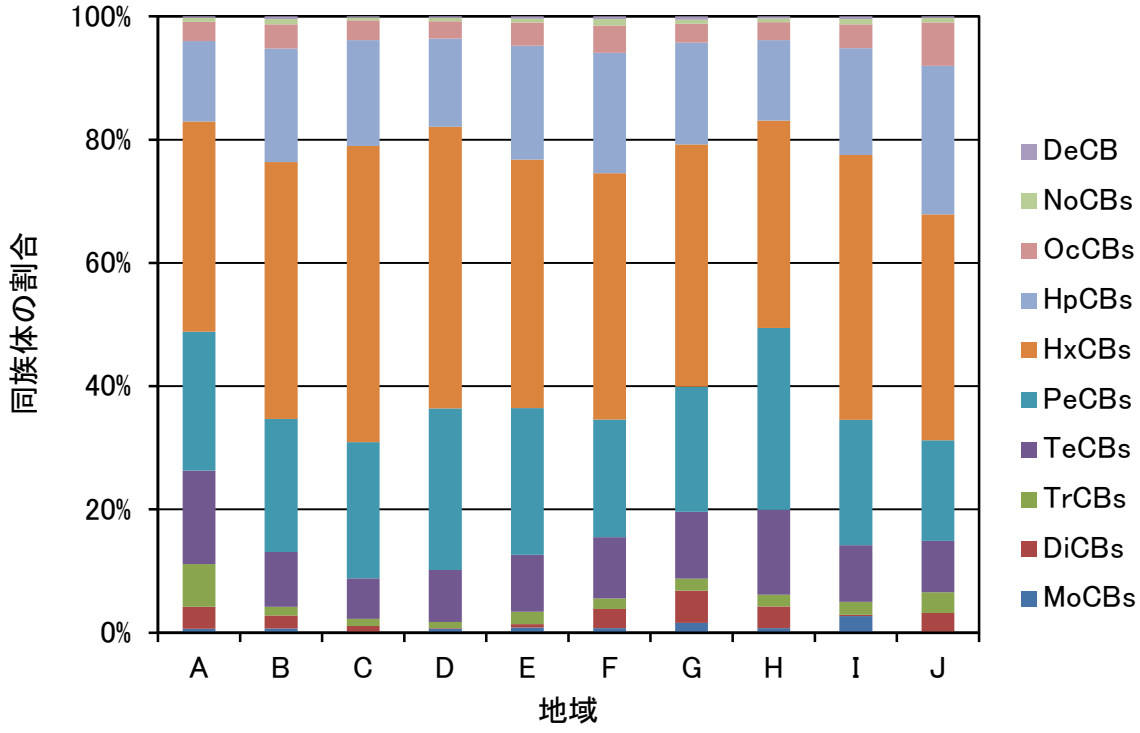


図 2　11 群からの PCBs 摂取量における PCBs 同族体の割合

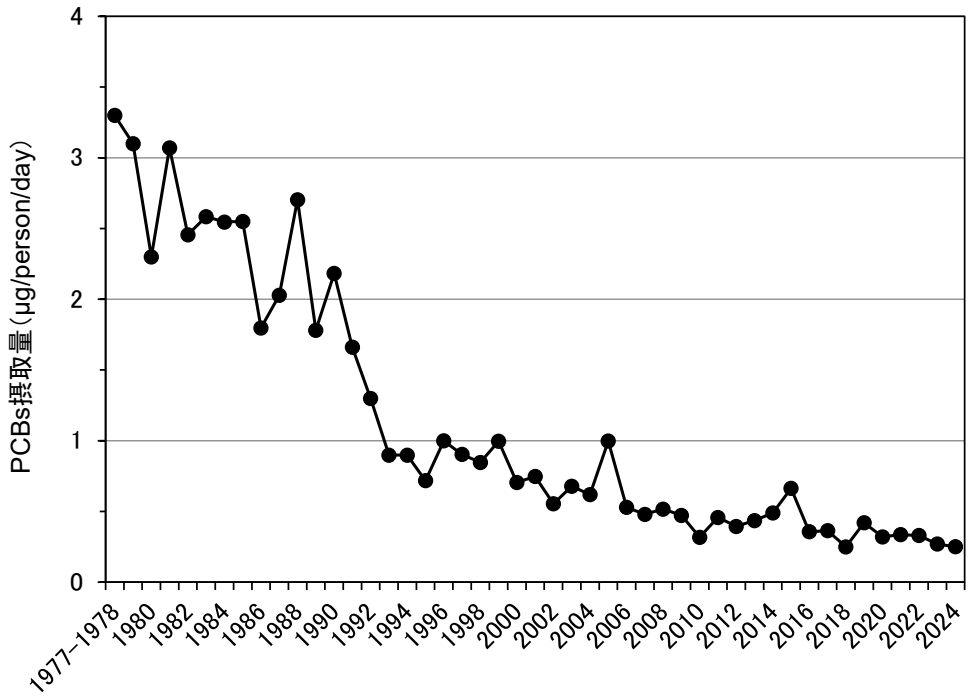


図３　総 PCBs 摂取量の経年変化（1977～2023 年）

Ⅱ．分担研究報告書

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

(1-3)トータルダイエット試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定

(1-3-1)食品中の有機フッ素化合物分析法の基礎検討

研究分担者　堤　智昭

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究
(1-3)トータルダイエット試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定
(1-3-1)食品中の有機フッ素化合物分析法の基礎検討

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，有機フッ素化合物（Per- and polyfluoroalkyl substances，PFAS）を対象とし，食品からのヒト曝露に関する研究を進めている．これまでの研究において，トータルダイエットスタディー試料に含まれるPFASのLC-MS/MS分析を検討してきた．一連の検討の中で長鎖PFAS（C10以上）については，前処理時の損失が課題となった．今年度の研究では，これらの課題の解決に向け長鎖PFASの分析法開発に着手した．上記の懸念点から精確な長鎖PFAS分析のためには前処理に用いる固相カラムや洗浄方法の変更が必要であるものと考えられた．一方で，既存の手順の工程に変更を加えることになるため，可能な限り簡便で実現可能な方法に改良する方針とした．まず，コンディショニングが不要な固相カラムであるPRiME HLBカラムを検討した結果，4種食品における2添加濃度の絶対回収率は，PFHxDA（C16）及びPFODA（C18）を除いて全種で40%以上となった．一方で，内標準法でも対応する安定同位体標識体を有していない長鎖PFAS（PFTrDA，PFHxDA及びPFODA）の回収率については，いずれも目標値（65～135%）を満たさなかった．続く検討において，液液分散マイクロ抽出法を，牛肉試料を用いて検討した結果，絶対回収率は全種で30%以上となり，内標準法における回収率は目標値（65～135%）を満たした．試料由来のマトリックスの影響が懸念点として残るが，LCカラムの溶出条件等を変更することにより対応可能であると考えられる．

研究協力者

井之上　浩一　立命館大学大学院薬学研究科　教授
高山　卓大　立命館大学薬学部薬学科　助教
加藤　紫花　立命館大学薬学部薬学科
樋口　朋哉　立命館大学薬学部薬学科

A. 研究目的

有機フッ素化合物（Per- and polyfluoroalkyl substances，PFAS）は複数のフッ素原子を持つ人工的な有機化合物の総称である．そのため，撥水・撥油性，熱・化学的安定性などの独特な性質を持つことから，容器包装材や界面活性剤，泡消化剤，調理用器具のコーティング剤など，幅広い製品に利用されている．その一方で，難分解性や高蓄積性，ヒトへの毒性の報告もあり，飲料水や食品からのヒト暴露に関して，国際的に厳密な規制が設定されてきている[1～3]．ま

た，本邦においても，食品安全委員会において摂取量の設定が始められており，これまで以上に慎重な議論が求められている[4]．我々の分担課題では，トータルダイエットスタディー（TD）試料中の PFAS を対象とした液体クロマトグラフィー−タンデム質量分析計（LC-MS/MS）を用いた分析法を検討してきた．そのなかで，PFAS を短中長鎖に分けそれぞれに適切な分析法を開発する必要があると考えた．その上で，適切に分析が行えることを確認できた分析法を国立衛生医薬品食品研究所に移管し，TD 試料の分析を実施していく方針と定めた．これまでに短鎖及び中鎖 PFAS（C4～C9）に関しては，弱陰イオン交換型の固相抽出に基づく分析法として報告した[5]．一方で，これまでの検討から，同一の分析条件での長鎖 PFAS（C10 以上）の分析は困難と考えられた．事実，本法に長鎖 PFAS（C10 以上）の分析を適用した場合，液体クロマトグラフィーでの保持が強く，溶出の安定しないカラムの洗浄工程での測定となること，また，前処理段階での非特異的吸着による損失が認められた．そこで，LC カラムを C8 修飾型のものに変更して，長鎖 PFAS の溶出を改善することが出来たが，検討用に用いた牛肉試料の添加回収試験では絶対回収率が 30%以下となり，適切な分析法に求められる性能として不十分であった．

今年度の研究では，上記の長鎖 PFAS 分析における課題点に対応するべく，さらなる分析法の改良を検討した．LC-MS/MS における溶出条件はこれまでに検討したものを用い，固相抽出カラムや，液液分散マイクロ抽出に基づく方法を検討した．

B. 研究方法

1. 試薬及び器具

標準品混合溶液は，（株）ウェリントンラボラトリージャパンより PFAC-MXC を購入した．内標準物質（I.S.）混合溶液は，（株）ウェリントンラボラトリージャパンより MPFAC-C-ES を購入した．それぞれに含有される PFAS の名称を表 1（なお，測定対象とする長鎖 PFAS には下線を付した．）に，測定対象物質の構造式を図 1 にまとめた．本実験に用いた試薬は，塩化ナトリウム（富士フイルム和光純薬社製）、アセトニトリル（富士フイルム和光純薬社製），酢酸アンモニウム（富士フイルム和光純薬社製），メタノール（富士フイルム和光純薬社製），酢酸（富士フイルム和光純薬社製），トリエチルアミン（富士フイルム和光純薬社製），クロロホルム（富士フイルム和光純薬社製）とした．超純水は Milli-Q EQ7000 system（Merck 社製）にて精製したものを採取し，試験に用いた．

遠心分離機：日立社製 CF15RN

ホモジナイザー：KINEMATICA 社製 ポリトロンホモジナイザーPT10-35GT

加熱濃縮装置：ジーエルサイエンス社製 リアクティバップ，リアクティサーモ

固相抽出カラム：Waters 社製 PRiME HLB（1 mL/30 mg）

2. 測定機器及び条件

LC 装置：Waters 社製 Acquity H Class

MS 装置：Waters 社製 Xevo TQXS

Capillary voltage 2.0 kV

Extractor voltage 3 V

RF lens voltage 2.5 V

Source temperature 150°C

Desolvation temperature 400°C

MS mode MRM mode

Cone/desolvation gas flows 50/800 L/hr

Cone voltage 15-50 V

Collision energy 15-50 eV

イオン化モード：ESI ネガティブモード

分離カラム： InertSustainSwift C8（2.1×100 mm，1.9 mm，GL Sciences 社製）

Delay カラム：Delay Column for PFAS（3.0×30 mm，ジーエルサイエンス社製）

移動相：A 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液，B 5 mmol/L 酢酸アンモニウム含有アセトニトリル

グラジエントプログラム：A/B=50/50（0 min）→15/85（13 min）→2/98（13.1-17 min）→50/50（17.1-20 min）
流速：0.2 mL/min
注入量：10 µL

表 1 に対象物質のトランジションと設定した内標準物質（I.S.）を示した．

3. 試験溶液の調製

標準溶液の調製方法：標準品混合溶液は開封後，適宜分注して-80℃にて保管した．検量線用標準溶液としては，分注した標準品混合溶液をメタノールで段階希釈し，0.5～200 ng/mL の混合液を調製した．また，添加回収率試験用の標準品混合溶液として，メタノールを用いて同様に希釈した 1 及び 10 ng/mL の溶液を調製した．I.S.混合溶液に関しても同様に，開封後，適宜分注して-80℃にて保管した．分注した溶液をメタノールにて希釈し，100 ng/mL の溶液（I.S.溶液）を試料調製供した．

検量線用試験溶液の調製：検量線用標準溶液として調製した混合溶液 100 µL と水 40 µL 及び I.S.溶液 10 µL を混合し，攪拌した．得られた溶液を測定用バイアルに移して検量線用試験溶液とした．

食品試料溶液の調製（洗浄工程まで）：食品としては牛肉，キャベツ，卵及び魚を検討した．

食品試料 5 g をアセトニトリル 20 mL を用いてホモジナイズ抽出を行った．I.S.混合溶液の 50 µL を添加し，内標準補正に用いた．添加回収試験実施時には，この段階で標準品混合溶液を添加した．その後，4℃，15,000 rpm で 10 分間遠心分離を行い，上清を回収した．さらに，残留物にアセトニトリル 10 mL を加えて同様にホモジナイズ抽出と遠心分離を行い，上清を回収した．回収した上清を，ロータリーエバポレーターを用いて約 3 mL に減圧濃縮した．この濃縮した溶液を酢酸緩衝液で約 10 mL に希釈し 1 次抽出液（以降、食品抽出液）とした．

固相抽出カラムによる精製：図 2 に簡潔なフローチャートとして示した．固相抽出カラム PRiME HLB（1 mL/30 mg, Waters 社製）を用いて，試料の精製及び濃縮を行った．まず，食品の抽出液 2 mL を通液し，分析対象物質を保持させた．通液後、0.1%ギ酸溶液 1 mL と水 1 mL を用いて洗浄を行い，3 分間カラムを乾燥させた．その後，0.5%トリエチルアミン含有アセトニトリル 2 mL を通して PFAS を溶出し，ポリプロピレン製の試験管に回収した．この抽出液を，窒素吹付機を用いて濃縮乾固し，100 µL の 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液/アセトニトリル（50/50, v/v）によって再溶解した．この溶液 10 µL を LC-MS/MS に注入した．

液液分散マイクロ抽出法による洗浄：図 3 に簡潔なフローチャートとして示した．食品抽出液の 1 mL をポリプロピレン製チューブに分取しアセトニトリル 3 mL を添加して攪拌した．次いで NaCl 300 mg を加えて攪拌後，4℃，2,600×g にて 3 分間，遠心分離を行った．その後，上清の 3.5 mL を分取し窒素吹付機を用いて約 0.7 mL まで濃縮した．これに pH 2.0 に調製した 6%の NaCl 液を 5 mL 加えた．ここにクロロホルム 800 µL を加え攪拌後，4℃，2,600×g にて 5 分間，遠心分離を行った．下層（クロロホルム層）を全量，窒素吹付機を用いて濃縮乾固し，100 µL の 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液/アセトニトリル（50/50, v/v）によって再溶解した．この溶液 10 µL を LC-MS/MS に注入した．

C. 研究結果及び考察

1. 固相抽出カラムの検討結果

昨年度までの検討において，短中鎖 PFAS 用の分析法における回収率を確認した．その結果，いずれの長鎖 PFAS も絶対回収率が 30%を下回っており，内標準補正を用いても目標とした回収率（65～135%）（EURL ガイドライン（version 2.0）[6]参照）が得られなかった．上記の懸念点から精確な分析のためには前処理に用いる固相カラムや洗浄方法の変更が必要であるものと考えら

れた. 一方で, 既存の分析工程に変更を加えることになるため, 可能な限り簡便に実現可能な方法を改良する方針とした. そこでまず, PRiME HLB を用いた検討を行った. 本製品は幅広い対象物質に対して優れた吸着性と高い回収の再現性を有し, コンディショニングが不要であるため, 簡潔な操作で適用可能である. 中鎖 PFAS 分析法の手順を分岐させ, 食品抽出液の一部を HLB 固相による処理を行うことで長鎖 PFAS に適用できないか検討した.

まず, 標準品溶液を用いて溶出工程における溶媒の検討を行った. 各溶媒を用いた回収率の結果を図 4 に示した. アセトニトリル, メタノール, 0.5%トリエチルアミン含有アセトニトリル及び 0.5%アンモニア水含有アセトニトリルを検討した結果, いずれもアセトニトリルあるいはアセトニトリル含有溶液において, 40%以上の絶対回収率が得られた. 一方で, 特に PFODA や PFHxDA において, 著しい吸着効果からか回収率が十分に確保できない傾向が認められた. これらの回収率の低下は, 溶出液量を増やしても改善は認められなかった. そのため, 今回の検討では溶出液として0.5%TEA 含有アセトニトリル溶液を選択した. 続いて本条件を用いて, 4 種の食品における長鎖 PFAS の回収率を検討した. 表 2 には内標準法による回収率の結果をまとめた. PFDA, PFUdA, PFDoA, PFTeDA, PFDS 及び PFDoS では内標準法に従う回収率が目標値(65～135%)を満たしており, 摂取量調査への適用が期待できた. 一方で, PFTrDA, PFHxDA 及び PFODA では内標準法による回収率は目標値から外れていた. これらの PFAS については類似する I.S.が混合液に含まれておらず, 前処理における挙動あるいは質量分析における絶対的な応答が I.S.と異なるためであると考えられる. また, 表 3 に示した絶対検量線法に基づく回収率に関して, 特に PFHxDA 及び PFODA で 10%を切る場合があり不良であった. これら2種を含めて長鎖PFASの中でも特に鎖長の長いものに関しては, 溶出溶媒量を増やしても回収率が改善しなかったことから, 固相担体への非特異的吸着が原因で回収率が低下した可能性が考えられた. そこで次に, 固相カラムを用いない前処理法として, 近年報告された液液分散マイクロ抽出法の適用を考えた.

2. 液液分散マイクロ抽出の検討結果

液液分散マイクロ抽出法を用いた PFAS の分析として, 2021 年に Fernando らが Talanta 誌に報告している [7]. 本報告では, 胎盤組織中の 10 種 PFAS の良好な分析(回収率が 88.2～113.9%)に成功しており, 固相抽出に代わる簡便な前処理方法として期待ができる. 今回, 予備的な検討として, 経験的に回収率の低下や試料マトリックスによる影響を受けやすいと考えられる牛肉を用いて, 添加回収試験を実施した. 食品抽出液を得た後の操作は極めて迅速であり, 合計 1 時間程度で処理が完了する. 表 4 には, 内標準法と絶対検量線法に従う添加回収試験の結果を示した. 内標準法において, 全ての対象で目標とした回収率(65～135%)を満たしており, 絶対検量線法においても全種で平均回収率 45%以上を達成した. 従って, 固相抽出カラムを用いた方法で認められた回収率の低下が改善しているものと考えられた. 一方で, 溶出位置の近い PFTrDA (6.1 分), PFTeDA(7.2 分)及び PFDS(5.9 分)において, 目標値を上回っていたものの, 絶対回収率の低下が認められた(図 5). 鎖長に相関性は無いため, 5～7 分辺りに共溶出している夾雑成分によるマトリックスの影響が考えられる. そのため, これらの影響を完全に排除するためには, LC カラムの変更や追加の精製操作等が必要となるものと考えられる.

D. 結論

食品中の長鎖 PFAS(C10 以上)の分析に向け検討を行った. まず初めに, 食品抽出液の一部を用いて PRiME HLB による精製を検討した. その結果, PFDA, PFUdA, PFDoA, PFTeDA, PFDS 及び PFDoS では, 内標準法に従う回収率

がいずれも目標値を満たしていた．一方で，PFTrDA, PFHxDA 及び PFODA では内標準法においても目標値から外れる場合が認められたため，固相担体への吸着が影響したものと考え，液液マイクロ分散抽出法の検討に取り組んだ．本分散抽出法の適用を行ったところ，牛肉試料において 9 種全種で良好な回収率が達成できた．

E. 参考文献

1) 環境省(2020年)：水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準等の施行等について．https://www.env.go.jp/press/files/jp/114042.pdf
2) European Food Safety Authority (2020), Risk to human health related to the presence of perfluoroalkyl substances in food. https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2020.6223.
3) United States Environmental Protection Agency (2022), EPA Announces New Drinking Water Health Advisories for PFAS Chemicals, $1 Billion in Bipartisan Infrastructure Law Funding to Strengthen Health Protections. https://www.epa.gov/newsreleases/epa-announces-new-drinking-water-health-advisories-pfas-chemicals-1-billion-bipartisan
4) 食品安全委員会(2023 年)：第 7 回有機フッ素化合物(PFASワーキンググループ), PFAS リスク評価書 https://www.fsc.go.jp/fsciis/meetingMaterial/show/kai20240126so1
5) Takayama T, Shnigu A, Nagatomo R, Tsutsumi T, Inoue K：Countermeasure for interfered monitoring ion of PFOS from intrinsic food samples based on strategic LC-MS/MS analysis of per- and polyfluoroalkyl substances. *J. Food Composition and Analysis*, 133 , 10643 (2024)
6) Guidance Document on Analytical Parameters for the Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Food and Feed （Version 2.0）, 10th , September (2024)
7) Vela-Soria F, García-Villanova J, Mustieles V, de Haro T, Antignac JP, Fernandez MF. Assessment of perfluoroalkyl substances in placenta by coupling salt assisted liquid-liquid extraction with dispersive liquid-liquid microextraction prior to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*. 221, 121577 (2021).

F.研究業績

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

表 1 PFAS 測定の SRM 条件

Analytes of PFAS (Abbreviation)	Monitoring ions of analytes	Cone voltage (V) /Collision energy (eV)	I.S.	Monitoring ions of I.S.
Perfluorobutanoic acid (PFBA)	213 > 169	20/10	$^{13}C_4$-PFBA	217 > 172
Perfluoropentanoic acid (PFPeA)	263 > 219	20/10	$^{13}C_5$-PFPeA	268 > 232
Perfluorohexanoic acid (PFHxA)	313 > 269	20/10	$^{13}C_5$-PFHxA	318 > 273
Perfluoroheptanoic acid (PFHpA)	363 > 319	20/10	$^{13}C_4$-PFHpA	367 > 322
Perfluorooctanoic acid (PFOA)	413 > 369	20/10	$^{13}C_8$-PFOA	421 > 376
Perfluorononanoic acid (PFNA)	463 > 419	25/10	$^{13}C_9$-PFNA	472 > 427
Perfluorodecanoic acid (PFDA)	513 > 469	25/10	$^{13}C_6$-PFDA	519 > 474
Perfluoroundecanoic acid (PFUdA)	563 > 519	25/10	$^{13}C_7$-PFUdA	570 > 525
Perfluorododecanoic acid (PFDoA)	613 > 569	25/10	$^{13}C_2$-PFDoA	615 > 570
Perfluorotridecanoic acid (PFTrDA)	663 > 619	25/10	$^{13}C_{12}$-PFDoA	615 > 570
Perfluorotetradecanoic acid (PFTeDA)	713 > 669	25/10	$^{13}C_2$-PFTeDA	715 > 670
Perfluorohexadecanoic acid (PFHxDA)	813 > 769	25/10	$^{13}C_2$-PFTeDA	715 > 670
Perfluorooctadecanoic acid (PFODA)	913 > 869	25/10	$^{13}C_2$-PFTeDA	715 > 670
Perfluorobutanesulfonic acid (PFBS)	299 > 80	55/30	$^{13}C_3$-PFBS	302 > 80
Perfluoropentanesulfonic acid (PFPeS)	349 > 80	55/35	$^{13}C_3$-PFBS	302 > 80
Perfluorohexanesulfonic acid (PFHxS)	399 > 80	60/40	$^{13}C_3$-PFHxS	402 > 80
Perfluoroheptanesulfonic acid (PFHpS)	449 > 80	65/45	$^{13}C_9$-PFNA	472 > 427
Perfluorooctanesulfonic acid (PFOS)	499 > 80	65/50	$^{13}C_8$-PFOS	507 > 80
Perfluorononanesulfonic acid (PFNS)	549 > 80	60/50	$^{13}C_7$-PFUdA	570 > 525
Perfluorodecanesulfonic acid (PFDS)	599 > 80	65/50	$^{13}C_8$-PFOS	507 > 80
Perfluorododecanesulfonic acid (PFDoS)	699 > 80	50/60	$^{13}C_8$-PFOS	507 > 80

※今年度の測定対象とした長鎖 PFAS には下線を付した.

表 2 PRiME HLB を用いた回収率検討(内標準法)

Food	0.100 ng/g	PFDA	PFUdA	PFDoA	PFTrDA	PFTeDA	PFHxDA	PFODA	PFDS	PFDoS
	Average	0.1132	0.1104	0.1165	0.09150	0.1174	0.03963	0.02213	0.1178	0.1119
Vegetable	Recovery(%)	113.2	110.4	116.5	91.5	117.4	39.6	22.1	117.8	111.9
	RSD	0.4	0.5	1.0	1.5	1.3	7.2	16.4	1.2	2.5
	Average	0.1052	0.1038	0.1088	0.0847	0.1081	0.02437	0.0046	0.08277	0.07000
Meet	Recovery(%)	105.2	103.8	108.8	84.7	108.1	24.4	4.6	82.8	70.0
	RSD	1.1	0.9	0.9	1.3	0.9	3.0	13.4	1.9	0.7
	Average	0.09927	0.1068	0.09780	0.1093	0.09593	0.03467	0.04117	0.09953	0.08033
Fish	Recovery(%)	99.3	106.8	97.8	109.3	95.9	34.7	41.2	99.5	80.3
	RSD	1.3	1.5	1.3	0.5	0.4	1.6	7.3	1.2	2.4
	Average	0.1076	0.1123	0.1064	0.1181	0.1037	0.0372	0.009000	0.09977	0.07693
Egg	Recovery(%)	107.6	112.3	106.4	118.1	103.7	37.2	9.0	99.8	76.9
	RSD	1.8	4.1	1.5	3.8	0.3	2.1	5.7	4.7	1.8

Food	1.00 ng/g	PFDA	PFUdA	PFDoA	PFTrDA	PFTeDA	PFHxDA	PFODA	PFDS	PFDoS
	Average	0.9651	0.9702	1.066	0.8418	1.070	0.3397	0.1824	1.124	1.076
Vegetable	Recovery(%)	96.5	97	106.6	84.2	107	34	18.2	112.4	107.6
	RSD	0.7	0.8	1.0	1.6	1.0	5.2	6.0	0.1	0.8
	Average	0.9648	0.9881	1.049	1.348	1.054	0.5517	0.2088	1.012	0.8344
Meet	Recovery(%)	96.5	98.8	104.9	134.8	105.4	55.2	20.9	101.2	83.4
	RSD	0.7	0.7	0.7	5.8	1.4	1.9	4.0	3.3	2.1
	Average	0.9991	0.9983	1.002	1.25	1.01	0.4995	0.4188	1.065	0.8402
Fish	Recovery(%)	99.9	99.8	100.2	125	101	50	41.9	106.5	84
	RSD	1.0	0.6	0.6	4.3	1.3	8.9	13.0	4.9	5.4
	Average	1.021	1.019	1.086	1.566	1.058	0.4636	0.1169	1.1	0.9234
Egg	Recovery(%)	102.1	101.9	108.6	156.6	105.8	46.4	11.7	110.0	92.3
	RSD	0.7	1.3	0.7	3.3	0.7	2.8	13.0	2.0	1.9

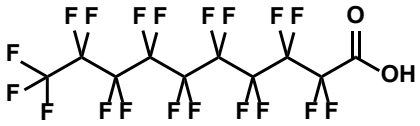
表 3 PRiME HLB を用いた回収率検討(絶対検量線法)

Food	0.100 ng/g	PFDA	PFUdA	PFDoA	PFTrDA	PFTeDA	PFHxDA	PFODA	PFDS	PFDoS
	Average	0.1054	0.0985	0.1002	0.07870	0.06007	0.01553	0.006433	0.101	0.0531
Vegetable	Recovery(%)	105.4	98.5	100.2	78.7	60.1	15.5	6.4	101	53.1
	RSD	0.2	0.6	0.6	1.7	0.4	12.5	33.7	2.1	4.7
	Average	0.09463	0.09907	0.09927	0.0749	0.04423	0.003333	0	0.07337	0.02153
Meet	Recovery(%)	94.6	99.1	99.3	74.9	44.2	3.3	0	73.4	21.5
	RSD	4.2	2.3	3.2	1.7	4.4	7.9	0	3.6	5.5
	Average	0.10427	0.1207	0.09650	0.1097	0.08417	0.021	0.0334	0.0878	0.05987
Fish	Recovery(%)	104.3	120.7	96.5	109.7	84.2	21	33.4	87.8	59.9
	RSD	1.4	4.7	3.6	1.2	1.5	7.9	11.7	1.8	0.2
	Average	0.04751	0.05766	0.08497	0.0999	0.07253	0.02167	0.003833	0.07527	0.0493
Egg	Recovery(%)	47.5	57.7	85	99.9	72.5	21.7	3.8	75.3	49.3
	RSD	5.4	4.9	5.9	1.9	2.3	3.3	8.1	2.5	2.4

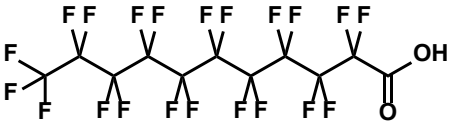
Food	1.00 ng/g	PFDA	PFUdA	PFDoA	PFTrDA	PFTeDA	PFHxDA	PFODA	PFDS	PFDoS
	Average	1.0654	1.028	0.9997	0.7965	0.607	0.1825	0.09437	1.020	0.5839
Vegetable	Recovery(%)	106.5	102.8	100	79.7	60.7	18.3	9.4	102.0	58.4
	RSD	2.4	2.4	1.7	2.2	3.8	7.6	6.1	0.9	2.8
	Average	0.8349	0.8385	0.9725	1.317	1.115	0.6247	0.2275	0.9264	0.907
Meet	Recovery(%)	83.5	83.9	97.3	131.7	111.5	62.5	22.8	92.6	90.7
	RSD	2.1	4.6	8.5	1.6	4.2	1.5	6.2	5.2	1
	Average	0.7896	1.123	1.075	1.35	1.246	0.6352	0.5298	1.112	1.019
Fish	Recovery(%)	79	112.3	107.5	135	124.6	63.5	53	111.2	101.9
	RSD	1.3	2	1.7	3.7	6	5.6	16.9	5.4	10.3
	Average	0.4681	0.5673	0.5787	0.8535	0.8714	0.3551	0.0887	0.5969	0.7018
Egg	Recovery(%)	46.8	56.7	57.9	85.4	87.1	35.5	8.9	59.7	70.2
	RSD	11.4	10.4	16.3	12.0	6.1	4.5	13.6	13.7	4.4

表 4 液液分散マイクロ抽出法に従う回収率検討

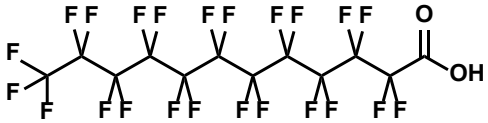
Food	1.00 ng/g	PFDA	PFUdA	PFDoA	PFTrDA	PFTeDA	PFHxDA	PFODA	PFDS	PFDoS
Meet (Internal)	Average	1.08	1.157	1.126	0.8801	1.066	1.132	1.084	0.8939	1.09
	Recovery(%)	108	115.7	112.6	88	106.6	113.2	108.4	89.4	109
	RSD	6.1	2.1	7.9	6.2	3.9	6.8	2.8	3.9	5.2
Meet (External)	Average	0.8515	0.8926	0.7649	0.5433	0.5579	0.7799	0.6681	0.4737	0.4682
	Recovery(%)	85.2	89.3	76.5	54.3	55.8	78	66.8	47.4	46.8
	RSD	7.5	7.6	6.2	8.7	23.1	12.8	18.8	10.6	33



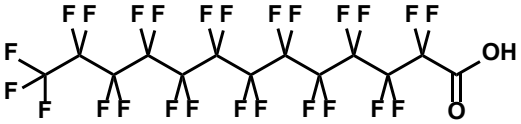
Perfluorodecanoic acid
(PFDA)



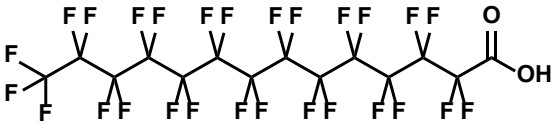
Perfluoroundecanoic acid
(PFUdA)



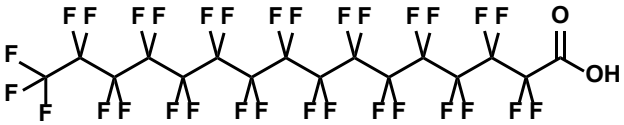
Perfluorododecanoic acid
(PFDoA)



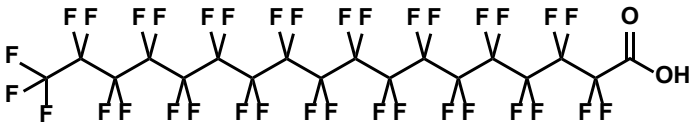
Perfluorotridecanoic acid
(PFTrDA)



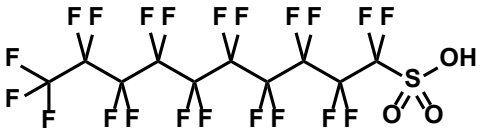
Perfluorotetradecanoic acid
(PFTeDA)



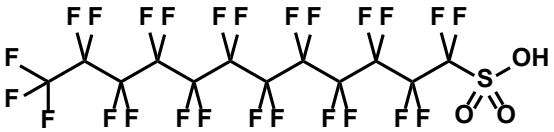
Perfluorohexadecanoic acid
(PFHxDA)



Perfluorooctadecanoic acid
(PFODA)



Perfluorodecanesulfonic acid
(PFDS)



Perfluorododecanesulfonic acid
(PFDoS)

図 1 分析対象物質一覧

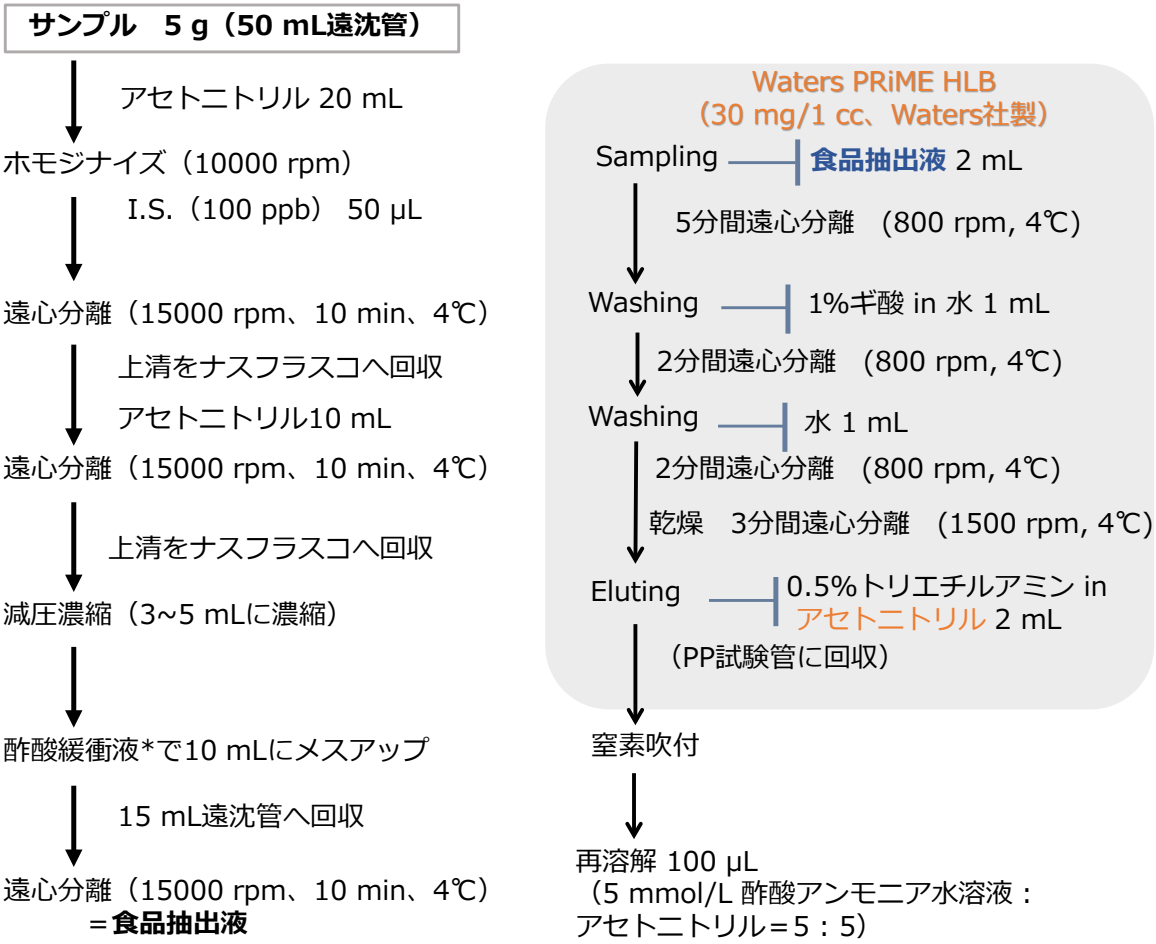


図 2 PRiME HLB を用いた前処理法のフローチャート

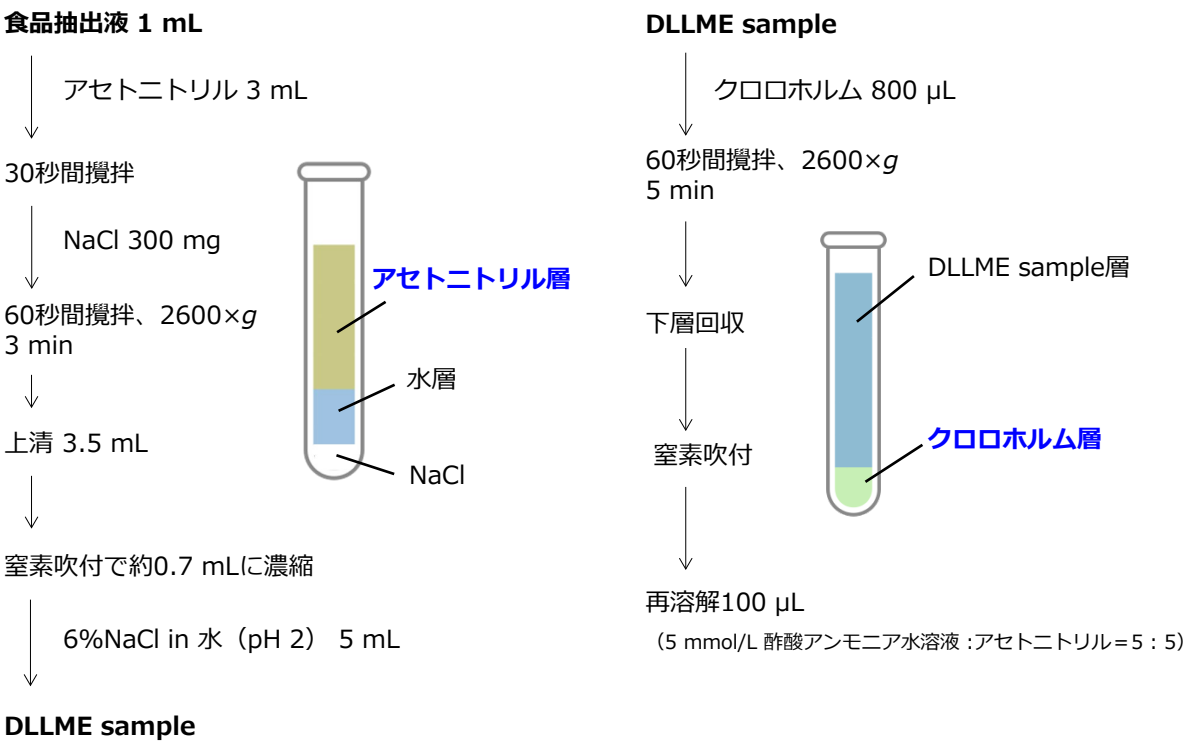


図 3 液液マイクロ分散抽出法を用いた前処理法のフローチャート

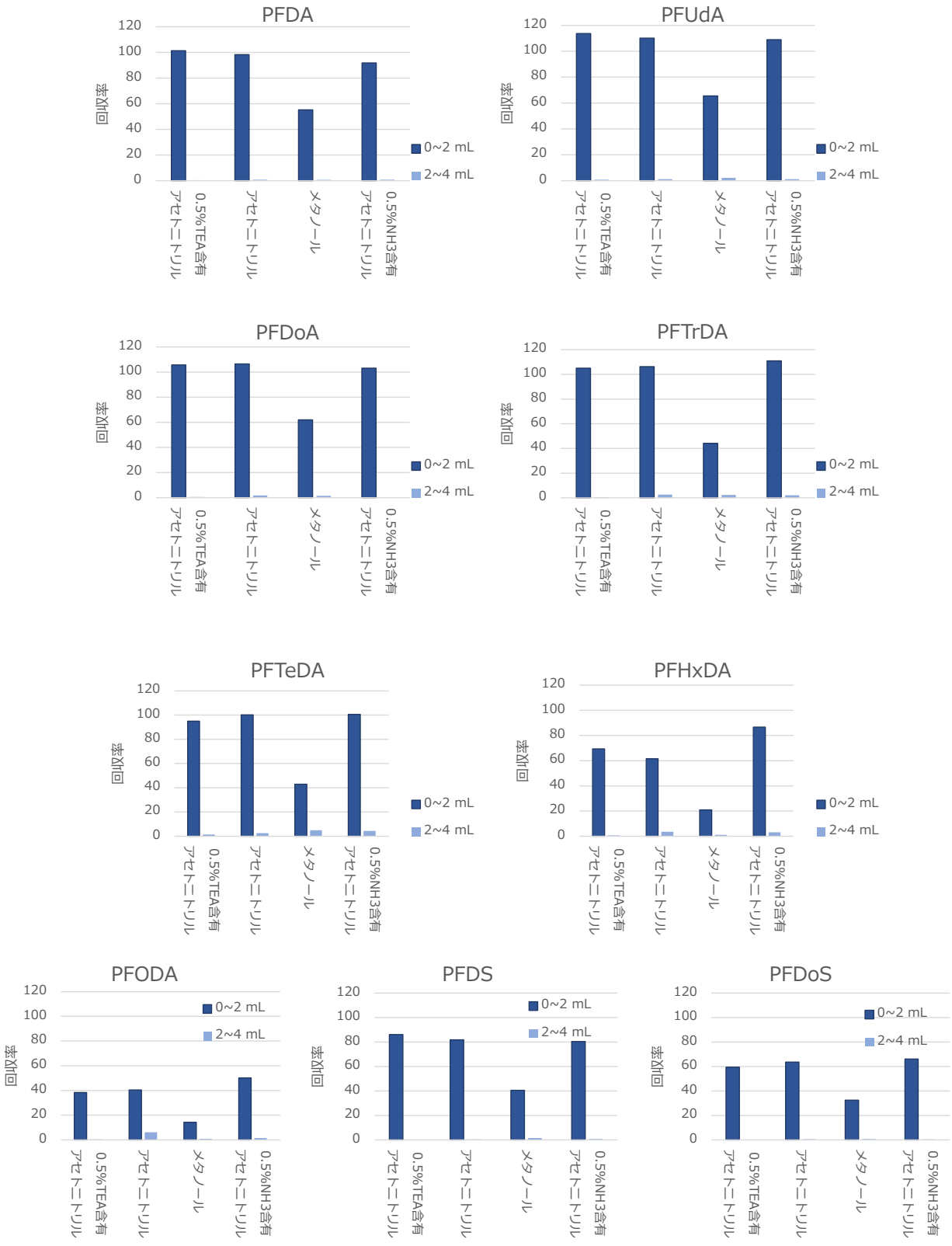


図 4 PRiME HLB 固相抽出条件の検討

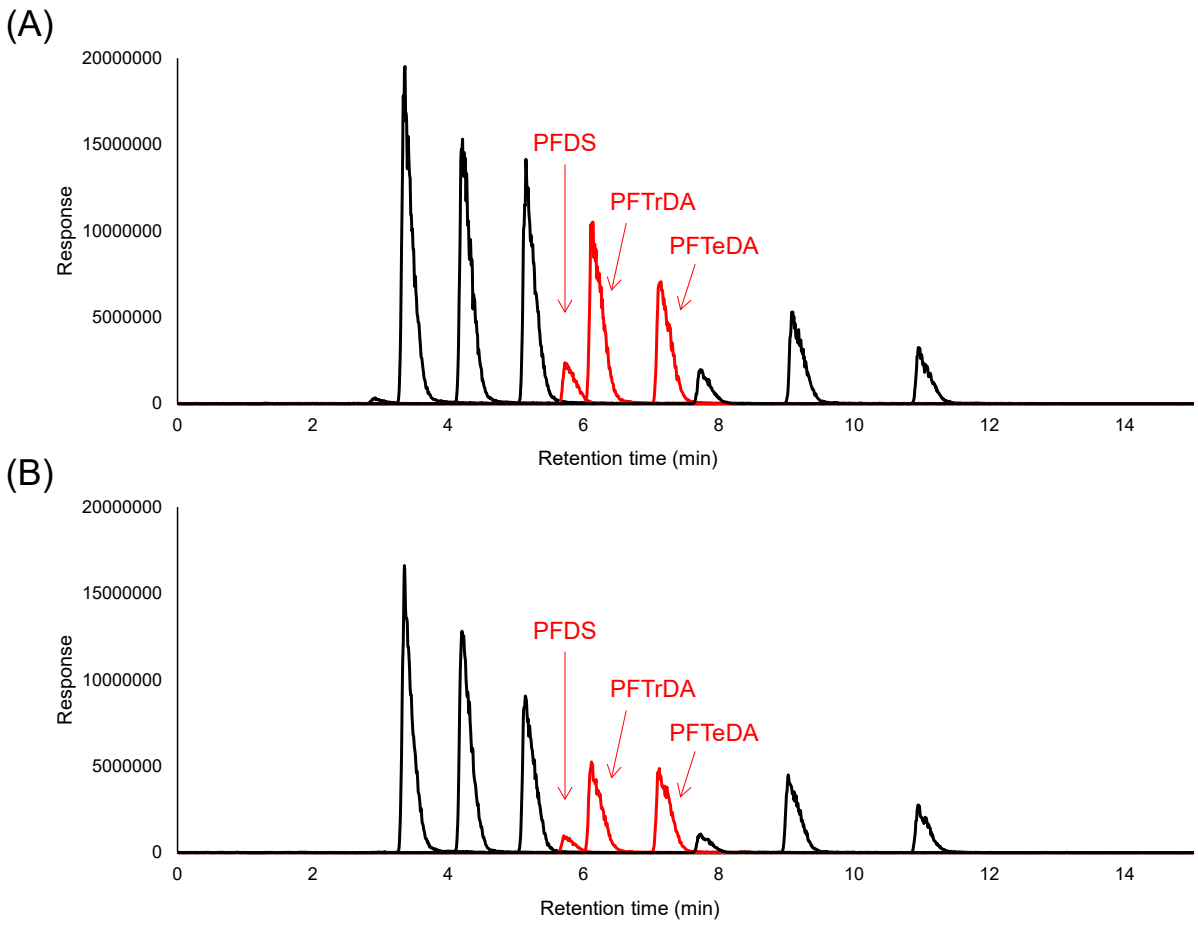


図 5 液液分散マイクロ抽出法に従う前処理液の MRM クロマトグラム
A:標準品溶液及び B:牛肉に添加した際のクロマトグラム.
赤線で表示した領域において顕著なマトリックス効果によるイオンサプレッションが観察される.

Ⅱ．分担研究報告書

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

(1-3)トータルダイエット試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定

(1-3-2)トータルダイエット試料中の有機フッ素化合物の分析及びその摂取量推定

研究分担者　堤　智昭

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究
(1-3)トータルダイエット試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定
(1-3-2)トータルダイエット試料中の有機フッ素化合物の分析及びその摂取量推定

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

前年度に引き続き、2022年度及び2023年度に、マーケットバスケット方式により調製したトータルダイエット(TD)試料を用いて、有機フッ素化合物(PFAS)の摂取量を推定した。国民健康・栄養調査による地域別の平均食品摂取量に基づいて食品を購入し、2地域のTD試料を調製した。TD試料に含まれるパーフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)、パーフルオロオクタン酸(PFOA)、パーフルオロヘキサンスルホン酸(PFHxS)及びパーフルオロノナン酸(PFNA)をLC-MS/MSを用いて分析し、各分子種の一日摂取量を推定した。その結果、体重(50 kgと仮定)あたりの一日摂取量(Lower-bound～Upper-bound)は、PFOSでは0.23～5.2 ng/kg bw/day、PFOAでは0.025～1.1 ng/kg bw/day、PFHxSでは0～0.44 ng/kg bw/day、PFNAでは0.063～2.0 ng/kg bw/dayの範囲と推定された。PFOS及びPFOAの推定摂取量は、食品安全委員会が食品健康影響の指標値として示した耐容一日摂取量(20 ng/kg bw/day)の1.1～26%及び0.13～5.6%に相当した。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

山﨑由貴、髙橋未来、柏原奈央、北山育子、鈴木美成、中村公亮

立命館大学大学院薬学研究科

井之上 浩一、高山卓大

A. 研究目的

有機フッ素化合物(パーおよびポリフルオロアルキル物質、PFAS)は炭素-フッ素結合を持ち、撥水・撥油性、物理的及び化学的な安定性を有していることから、これまで多様な用途で使用されてきた。しかしながら、PFAS の一種であるパーフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)、パーフルオロオクタン酸(PFOA)及びパーフルオロヘキサンスルホン酸(PFHxS)は難分解性、高蓄積性及びヒトや高次捕食動物への長期毒性が懸念されている。これらの分子種について、残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約(POPs 条約)及び化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)により製造・輸入が原則禁止された。2024 年 6 月には、食品安全委員会が「有機フッ素化合物(PFAS)に係る食品健康影響評価」を公表し、現時点の科学的知見に基づいた耐容一日摂取量(TDI)として、PFOS については 20 ng/kg bw/day、PFOA については 20 ng/kg bw/day の値が示された[1)]。さらに、水道法について、環境省は PFOS 及び PFOA を水質管理目標設定項目から水質基準項目に引き上げることを決定し、その基準値を PFOS 及び PFOA の合算

値として 50 ng/L に設定する予定である[2]。こうした動向を受け、我が国における食品を通じた PFAS の摂取量を評価し、リスク管理の必要性について検討することが求められている。

前年度の調査では、2022 及び 2023 年度に調製した 2 地域のトータルダイエット(TD)試料を分析し、PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の摂取量を推定した。その結果、PFOS 及び PFOA の推定摂取量は TDI の 2.0～16%及び 0.24～6.6%に相当し、食品安全委員会から示された TDI を下回ることが明らかとなった。本年度は、2022 及び 2023 年度に調製した TD 試料中のうち、前年度と異なる 2 地域の TD 試料中の PFAS を分析し、引き続き PFAS 摂取量の推定に取り組んだ。

B. 研究方法

1. TD 試料

PFAS 摂取量を推定するための TD 試料は、次のように調製した。厚生労働省が実施した平成 29 年～令和元年(2017～2019 年)の国民健康・栄養調査の地域別食品摂取量(1 歳以上)を小分類ごとに平均し、各食品小分類の地域別摂取量とした。本分担研究課題では、令和 4 年度及び 5 年度(2022 年度及び 2023 年度)において、前年度と異なる 2 地域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食品を計量し、食品によっては調理した後、食品群(計 13 食品群)ごとに混合均一化したものを試料とした。さらに飲料水(水道水)の群を加えて計 14 食品群とした。調製した試料は、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
2 群:穀類・芋類・種実類
3 群:砂糖類・菓子類
4 群:油脂類
5 群:豆類
6 群:果実類
7 群:緑黄色野菜
8 群:その他の野菜類・きのこ類・海藻類
9 群:嗜好飲料
10 群:魚介類
11 群:肉類・卵類
12 群:乳・乳製品
13 群:調味料類
14 群:飲料水

2. 分析対象分子種

分析対象とする PFAS 分子種は、食品安全委員会が TDI を示した PFOS 及び PFOA に加え、PFOS 及び PFOA とともに化審法に基づく第一種特定化学物質として指定されている PFHxS、及び EU において上記の 3 分子種との合計値として耐容週間摂取量が定められているパーフルオロノナン酸(PFNA)[5]を含めた計 4 種とした。なお、PFAS には直鎖型及び分岐鎖型の複数の異性体が存在することが知られているが、前年度と同様に直鎖型のみを定量対象とした。

3. 分析

3-1. 試薬

PFAS 混合標準溶液は(株)ウェリントンラボラトリージャパンより PFAC-MXC を購入した。内部標準物質(IS)混合標準溶液は(株)ウェリントンラボラトリージャパンより MPFAC-C-ES を購入した。

アセトニトリル(LC/MS 用)、メタノール(LC/MS 用)、アンモニア水(28.0～30.0%、特級)、1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液(高速液体クロマトグラフィー用)及び蒸留水(LC/MS 用)は関東化学(株)より購入した。酢酸(LC/MS 用)は富士フイルム和光純薬(株)より購入した。

抽出用のステンレスボール(直径 9.5 mm)は Cole-Parmer 社より購入した。逆相-弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラム(WAX カラム、Strata-XL-AW、100 μm、500 mg/6 mL)は Phenomenex 社より購入した。ポリエーテルスルホン(PES)シリンジフィルター(孔径 0.2 μm、フィルター径 4 mm)は Agilent Technologies 社より購入した。

3-2. 機器

LC: ACQUITY UPLC CLASS-I (Waters 製)
MS: AB SCIEX Triple Quad 5500 System (SCIEX 製)

3-3. 試験溶液の調製

均一化した試料 5.0 g を 100 mL ポリプロピレンチューブに量りとり、各分子種の ^{13}C 標識体を 10 ng/mL の濃度で含む IS 混合標準溶液 0.1 mL を加えた(試料中濃度として 0.2 ng/g を添加)。次いで、3 群及び 13 群の試料については、水 5 mL も加えた。試料にアセトニトリル 20 mL を加え、ポリトロン(Model PT3100D、KINEMATICA 製)を用いて 1 分間ホモジナイズした後、0℃、3,000 rpm で 5 分間遠心分離を行った。得られた上清をナスフラスコに移した後、残渣にアセトニトリル 10 mL 及びステンレスボール 1 個を加え、振とう機(エルビス EL 型、スギヤマゲン製)を用いて 5 分間振とうした。0℃、3,000 rpm で 5 分間遠心分離を行った後、得られた上清を合わせ、40℃で 10 mL 以下まで減圧濃縮した。これに 20 mM 酢酸緩衝液(pH5.2)15 mL を加えたものを抽出液とした。

WAX カラムに 2%(v/v)アンモニア水含有メタノール 10 mL、メタノール 10 mL 及び 20 mM 酢酸緩衝液(pH5.2)10 mL を順次注入し、コンディショニング及び平衡化を行った。このカラムに抽出液を全量負荷し、25 mM 酢酸アンモニウム水溶液 10 mL 及びメタノール 15 mL で洗浄した後、2%(v/v)アンモニア水含有メタノール 4 mL で溶出した。窒素気流により溶媒を留去し、メタノール 0.5 mL で再溶解した後、0.22 µm PES フィルターでろ過したろ液を試験溶液とした。PFOS の分析では、必要に応じて、ろ液をメタノールで 5 倍希釈したものを試験溶液とした。

3-4. LC-MS/MS 測定条件

LC 分析カラム:Accura Triart C18(YMC 製)、粒子径 1.9 µm、内径 2.1 mm、長さ 150 mm
ガードカートリッジカラム:Triart C18(YMC 製)、粒子径 1.9 µm、細孔径 12 mm、内径 2.1 mm、長さ 5 mm
ディレイカラム:Delay column for PFAS(ジーエルサイエンス製)、内径 3.0 mm、長さ 30 mm
溶離液 A:2.5 mM 酢酸アンモニウム水溶液
溶離液 B:アセトニトリル
流速:0.25 mL/分
グラジエント条件:30%B(0.0-0.5 分)→30-95%B の直線グラジエント(0.5-15.5 分)→95%B(15.5-21.5 分)
イオン化モード:ESI ネガティブ
カーテンガス:30 psi
イオンスプレー電圧:−1500 V
ヒーター温度:400℃
コリジョンガス:10(窒素)
ネブライザーガス:30 psi
ターボガス:80 psi
モニターイオン:表 1 に示した通り
注入量:2 µL

3-5. 検量線の作成

内部標準法により検量線を作成した。各分子種の濃度が 0.05、0.1、0.25、0.5、1、2、4、5、7.5 及び 10 ng/mL となるように、メタノールを用いて検量線作成用標準溶液(10 点)を調製した。IS の濃度はいずれも 2 ng/mL とした。各標準溶液に対して 1 回測定を実施し、各分子種と対応する IS の面積比を算出した上で検量線を作成した。全ての分子種について、検量線の重み付けには $1/x^2$ を用いた。

3-6. 試験溶液の測定

操作ブランクにおいて S/N ≥ 3 のピークが認められた場合には、試料及び添加試料における各分子種の面積値から操作ブランクにおける面積値を差し引いた上で定量を行った。

3-7. 定量下限値の推定

最低濃度の検量線作成用標準溶液(0.05

ng/mL）及び操作ブランクを LC-MS/MS により分析し、操作ブランクの寄与が 30%以下[6] かつ S/N ≥ 10 に相当する濃度を定量下限値（LOQ）として求めた。本分析法における各分子種の LOQ は、前年度と同じく、TD 試料中の濃度として PFOS 及び PFHxS については 0.005 ng/g（ナトリウム塩として）、PFOA については 0.010 ng/g（酸として）、PFNA については 0.015 ng/g（酸として）とした。

4. PFAS 摂取量の推定

TD 試料における各分子種の濃度に各群の食品摂取量を乗じ、PFOS、PFAS、PFHxS 及び PFNA の摂取量を推定した。なお、14 群（飲料水）の摂取量は 250 g/day とした。推定にあたっては、LOQ 未満の分析値を 0 として扱う場合（Lower-bound, LB）及び LOQ 未満の分析値を LOQ として扱う場合（Upper-bound, UB）の両方で摂取量を算出した。体重あたりの摂取量は、体重を 50 kg として仮定して算出した。

C. 研究結果及び考察

2022 及び 2023 年度に、それぞれ 2 地域において調製した TD 試料（2022-03、2022-04、2023-03 及び 2023-04）を分析し、各試料における PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の含有量を求めた（表 2）。各分子種の含有量は、いずれも酸として示した。8 群における PFOS 及び 10 群における PFHxS については、定量イオンに LOQ と同程度又は LOQ を大きく上回る夾雑物のピークが認められたことから、前年度と同様に定性イオンを用いて定量を行った。

PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA について、いずれの TD 試料においても、IS 回収率は PFOS では 50～109%、PFOA では 50～105%、PFHxS では 78～108%及び PFNA では 49～113%を示し、EU のガイドラインにおける目標値（30～140%）[3]を満たした。また、LOQ を上回る値を示した試料のうち、2022-03 の 11 群中の PFOS を除く全ての試料においてイオン比は PFOS では 96～119%、PFOA では 92～99%、PFHxS では 100～105%及び PFNA では 99～103%を示し、EU のガイドラインにおける目標値（70～130%）[3]を満たした。一方、2022-03 の 11 群中の PFOS についてのみ、イオン比は 68%と目標値を僅かに下回ったため、当該分析値は参考値とした。

表 2 の分析結果をもとに推定した各分子種の摂取量（LB～UB）は、PFOS では 11～262 ng/day、PFOA では 1.3～56 ng/day、PFHxS では 0～22 ng/day、PFNA では 3.2～98 ng/day であった（表 3）。日本人の平均体重を 50 kg と仮定して体重あたりの摂取量に換算すると、PFOS では 0.23～5.2 ng/kg bw/day、PFOA では 0.025～1.1 ng/kg bw/day、PFHxS では 0～0.44 ng/kg bw/day 及び PFNA では 0.063～2.0 ng/kg bw/day と推定された。PFOS 及び PFOA の推定摂取量は TDI（20 ng/kg bw/day）[1] の 1.1～26%及び 0.13～5.6%に相当し、昨年度の結果と同様に、両分子種の摂取量は TDI を下回ることが示された。また、各分子種の総摂取量に対する各群の寄与率（表 4）を求めた結果、LB を用いた場合の 10 群の寄与率は、PFOS では 78.1～99.5%、PFOA では 100.0%、PFHxS では 100.0%及び PFNA では 100.0%を示したことから、PFAS の主な摂取源は 10 群であることが示唆された。

10 群のうち、2022-03 における各分子種の含有量は、PFOS では 2.561 ng/g、PFOA では 0.326 ng/g、PFHxS では 0.105 ng/g 及び PFNA では 0.627 ng/g を示し、他の試料と比べて高値であった（表 2）。最も含有量が高かった PFOS について、日本国内の調査結果とその含有量を比較した。農林水産省が令和 3 年及び 4 年度（2021 年度及び 2022 年度）に行った国内周辺水域で生産・水揚げされた水産物中に含まれる PFAS 含有量調査結果[3] においては、PFOS 含有量の平均値は 0.468～0.469 ng/g（LB～UB）、最大値は 2.7 ng/g と報告されている。本研究の 2022-04、2023-03 及び 2023-04 の 10 群における PFOS 含有量（0.172～0.729 ng/g）は、農林水産省の調査結果の平均値（UB）と比較して 0.4～

1.6 倍程度と類似した値を示すことから、これらの試料における PFOS 含有量は妥当な値と考えられた。その一方、本研究の 2022-03 における PFOS 含有量は、他の試料に比較して高い値を示したものの、その含有量(2.6 ng/g)は農林水産省による調査結果の最大値(2.7 ng/g)と同程度であったことから、2022-03 に含まれる PFOS は、通常あり得ないほどの高濃度ではないと考えられた。したがって、2022-03 の 10 群試料には、PFAS を高濃度に含有する魚介類あるいはその加工品が偶発的に含まれたことが疑われた。

次に、推定された各分子種の摂取量について、先行調査との比較を行った。農林水産省が実施したマーケットバスケット方式によるトータルダイエットスタディ(2012～2014 年度)では、体重あたりの平均摂取量(LB～UB)は、PFOS について 0.60～1.1 ng/kg bw/day、PFOA について 0.066～0.75 ng/kg bw/day と推定されており[5]、本研究で推定された 2022-04、2023-03 及び 2023-04 の PFOS 及び PFOA 摂取量(0.23～1.6 ng/kg bw/day 及び 0.025～0.59 ng/kg bw/day、LB～UB)は、農林水産省の推定値と類似した値を示した。一方、2022-3 から推定された摂取量は、農林水産省が UB を用いて推定した摂取量に対して高値を示したが、これは前述の通り、当該試料に PFAS を高濃度に含有する食品が偶発的に含まれたことに起因すると考えられた。

また、EU の調査では、成人(18 歳以上 65 歳未満)の平均摂取量群における各分子種の推定摂取量(LB～UB)は、PFOS では 0.29～5.94 ng/kg bw/day、PFOA では 0.13～5.71 ng/kg bw/day、PFHxS では 0.06～5.06 ng/kg bw/day 及び PFNA では 0.02～5.25 ng/kg bw/day と報告されており[6]、本研究において推定された各分子種の摂取量は、いずれも EU が示した推定摂取量の UB 未満の値を示した。このことから、我が国における PFAS の摂取量について、現時点で諸外国に比較して著しく高値を示す可能性は低いと考えられた。

D. 結論

2022 及び 2023 年度に、それぞれ 2 地域において調製した TD 試料(2022-03、2022-04、2023-03 及び 2023-04)を分析し、PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の一日摂取量を推定した。各分子種の摂取量(LB～UB)は、PFOS では 11 ～ 262 ng/day、PFOA では 1.3 ～ 56 ng/day、PFHxS では 0～22 ng/day、PFNA では 3.2～98 ng/day と推定された。日本人の平均体重を 50 kg と仮定して体重あたりの摂取量に換算すると、PFOS では 0.23～5.2 ng/kg bw/day、PFOA では 0.025～1.1 ng/kg bw/day、PFHxS では 0～0.44 ng/kg bw/day、PFNA では 0.063～2.0 ng/kg bw/day と推定された。PFOS 及び PFOA の推定摂取量は、TDI の 1.1～26%及び 0.13～5.6%に相当し、その値は食品安全委員会から示された TDI を下回っていた。

E. 参考文献

1) 食品安全委員会 有機フッ素化合物(PFAS)ワーキンググループ、有機フッ素化合物(PFAS)に係る食品健康影響評価 評価書(2024).
2) 中央環境審議会水環境・土壌農薬部会 水道水質・衛生管理小委員会、水道における水質基準等の見直しについて(第1次報告)(案)(2024).
3) European Union Reference Laboratory for halogenated POPs in Feed and Food, Guidance Document on Analytical Parameters for the Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Food and Feed. Version 2.0 (2024).
4) 農林水産省、令和3～4年度水産物中のパーフルオロアルキル化合物の実態調査結果(2023).
5) 農林水産省、食品安全に関するリスクプロファイルシート(化学物質) パーフルオロアルキル化合物(2023).
6) European Food Safety Authority (EFSA).

Risk to human health related to the presence of perfluoroalkyl substances in food 2020. 18(9):6223 (2020).

F. 研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

表 1　LC-MS/MS 分析に用いたモニターイオン

分子種	定量イオン						定性イオン					
	プリカーサーイオン (*m/z*)	プロダクトイオン (*m/z*)	DP	EP	CE	CXP	プリカーサーイオン (*m/z*)	プロダクトイオン (*m/z*)	DP	EP	CE	CXP
PFOS	498.8	80.0	−135	−10	−114	−11	498.8	98.9	−135	−10	−98	−11
PFOA	412.9	368.8	−60	−10	−14	−31	412.9	168.9	−60	−10	−24	−15
PFHxS	398.9	80.0	−45	−10	−90	−7	398.9	98.9	−45	−10	−42	−9
PFNA	462.8	418.8	−55	−10	−16	−33	462.8	218.8	−55	−10	−24	−19
$^{13}C_8$-PFOS	506.8	80.0	−175	−10	−124	−9	506.8	98.9	−175	−10	−104	−13
$^{13}C_8$-PFOA	421.0	375.8	−70	−10	−14	−31	421.0	171.9	−70	−10	−24	−15
$^{13}C_3$-PFHxS	402.0	98.9	−45	−10	−42	−9	402.0	79.9	−75	−10	−90	−9
$^{13}C_9$-PFNA	471.9	426.8	−45	−10	−16	−33	471.9	222.8	−45	−10	−24	−19

表 2 TD 試料における PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA 分析結果

PFOS

食品群	含有量 (ng/g)				IS回収率 (%)				イオン比 (%)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	75	79	81	79	N/A	N/A	N/A	N/A
2群（穀類・芋類・種実類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	105	81	101	81	N/A	N/A	N/A	N/A
3群（砂糖類・菓子類）	0.011	<LOQ	0.014	<LOQ	91	92	89	80	112	N/A	119	N/A
4群（油脂類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	99	93	95	91	N/A	N/A	N/A	N/A
5群（豆類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	53	70	50	73	N/A	N/A	N/A	N/A
6群（果実類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	99	103	97	106	N/A	N/A	N/A	N/A
7群（緑黄色野菜）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	84	87	90	89	N/A	N/A	N/A	N/A
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	109	84	102	82	N/A	N/A	N/A	N/A
9群（嗜好飲料）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	100	101	102	103	N/A	N/A	N/A	N/A
10群（魚介類）	2.561	0.198	0.729	0.172	102	105	79	100	99	102	98	99
11群（肉類・卵類）	(0.006)	0.008	<LOQ	0.019	90	96	94	96	68	96	N/A	102
12群（乳・乳製品）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	99	98	98	98	N/A	N/A	N/A	N/A
13群（調味料類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	101	105	103	104	N/A	N/A	N/A	N/A
14群（飲料水）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	96	95	97	98	N/A	N/A	N/A	N/A

PFOA

食品群	含有量 (ng/g)				IS回収率 (%)				イオン比 (%)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	61	51	59	52	N/A	N/A	N/A	N/A
2群（穀類・芋類・種実類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	81	63	85	69	N/A	N/A	N/A	N/A
3群（砂糖類・菓子類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	85	86	83	79	N/A	N/A	N/A	N/A
4群（油脂類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	91	90	87	80	N/A	N/A	N/A	N/A
5群（豆類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	68	67	57	65	N/A	N/A	N/A	N/A
6群（果実類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	73	86	72	90	N/A	N/A	N/A	N/A
7群（緑黄色野菜）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	86	81	91	70	N/A	N/A	N/A	N/A
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	92	83	91	84	N/A	N/A	N/A	N/A
9群（嗜好飲料）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	101	98	97	101	N/A	N/A	N/A	N/A
10群（魚介類）	0.326	0.024	0.054	0.051	94	96	103	105	99	98	92	96
11群（肉類・卵類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	84	95	88	96	N/A	N/A	N/A	N/A
12群（乳・乳製品）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	84	89	99	83	N/A	N/A	N/A	N/A
13群（調味料類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	93	92	89	88	N/A	N/A	N/A	N/A
14群（飲料水）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	95	50	91	83	N/A	N/A	N/A	N/A

PFHxS

食品群	含有量 (ng/g)				IS回収率 (%)				イオン比 (%)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	97	94	102	93	N/A	N/A	N/A	N/A
2群（穀類・芋類・種実類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	106	87	105	97	N/A	N/A	N/A	N/A
3群（砂糖類・菓子類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	95	101	99	99	N/A	N/A	N/A	N/A
4群（油脂類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	101	97	95	95	N/A	N/A	N/A	N/A
5群（豆類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	85	85	78	80	N/A	N/A	N/A	N/A
6群（果実類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	82	93	82	97	N/A	N/A	N/A	N/A
7群（緑黄色野菜）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	82	89	91	84	N/A	N/A	N/A	N/A
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	96	96	97	100	N/A	N/A	N/A	N/A
9群（嗜好飲料）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	100	97	93	97	N/A	N/A	N/A	N/A
10群（魚介類）	0.105	<LOQ	0.020	<LOQ	99	100	99	108	100	N/A	105	N/A
11群（肉類・卵類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	95	103	99	103	N/A	N/A	N/A	N/A
12群（乳・乳製品）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	106	104	102	100	N/A	N/A	N/A	N/A
13群（調味料類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	104	104	106	106	N/A	N/A	N/A	N/A
14群（飲料水）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	99	99	102	107	N/A	N/A	N/A	N/A

PFNA

食品群	含有量 (ng/g)				IS回収率 (%)				イオン比 (%)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	53	52	54	49	N/A	N/A	N/A	N/A
2群（穀類・芋類・種実類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	83	61	84	64	N/A	N/A	N/A	N/A
3群（砂糖類・菓子類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	91	87	88	85	N/A	N/A	N/A	N/A
4群（油脂類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	93	90	89	82	N/A	N/A	N/A	N/A
5群（豆類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	80	83	67	72	N/A	N/A	N/A	N/A
6群（果実類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	72	81	72	88	N/A	N/A	N/A	N/A
7群（緑黄色野菜）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	80	81	86	84	N/A	N/A	N/A	N/A
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	89	85	87	89	N/A	N/A	N/A	N/A
9群（嗜好飲料）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	97	99	95	98	N/A	N/A	N/A	N/A
10群（魚介類）	0.627	0.061	0.123	0.065	105	105	108	113	99	101	103	101
11群（肉類・卵類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	88	105	95	106	N/A	N/A	N/A	N/A
12群（乳・乳製品）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	89	94	101	84	N/A	N/A	N/A	N/A
13群（調味料類）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	93	94	94	91	N/A	N/A	N/A	N/A
14群（飲料水）	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	93	59	90	85	N/A	N/A	N/A	N/A

(　): 参考値
N/A, not applicable: 分析値がLOQ未満を示したため、イオン比算出の対象外

表 3　TD 試料からの PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA 摂取量

PFOS (ng/day)

食品群	LB (< LOQ = 0)				UB (< LOQ = LOQ)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	0.00	0.00	0.00	0.00	2.37	1.92	2.37	1.92
2群（穀類・芋類・種実類）	0.00	0.00	0.00	0.00	1.61	0.69	1.61	0.71
3群（砂糖類・菓子類）	0.43	0.00	0.57	0.00	0.43	0.15	0.57	0.15
4群（油脂類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	0.05	0.05
5群（豆類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.28	0.31	0.28	0.29
6群（果実類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.48	0.41	0.48	0.41
7群（緑黄色野菜）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	0.35	0.40	0.36
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.92	0.81	0.92	0.81
9群（嗜好飲料）	0.00	0.00	0.00	0.00	2.52	3.19	2.52	3.19
10群（魚介類）	249.99	10.37	69.08	8.89	249.99	10.37	69.08	8.89
11群（肉類・卵類）	0.84	1.12	0.00	2.50	0.84	1.12	0.72	2.50
12群（乳・乳製品）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.65	0.57	0.65	0.57
13群（調味料類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.31	0.33	0.31
14群（飲料水）	0.00	0.00	0.00	0.00	1.20	1.20	1.20	1.20
総摂取量	251	11	70	11	262	21	81	21
体重あたりの総摂取量（ng/kg bw/day）	5.0	0.23	1.4	0.23	5.2	0.43	1.6	0.43

PFOA (ng/day)

食品群	LB (< LOQ = 0)				UB (< LOQ = LOQ)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	0.00	0.00	0.00	0.00	4.95	4.01	4.95	4.00
2群（穀類・芋類・種実類）	0.00	0.00	0.00	0.00	3.36	1.45	3.37	1.47
3群（砂糖類・菓子類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.41	0.31	0.41	0.31
4群（油脂類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.11	0.11	0.11
5群（豆類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.59	0.65	0.59	0.60
6群（果実類）	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.86	1.00	0.86
7群（緑黄色野菜）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.84	0.73	0.83	0.75
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	0.00	0.00	0.00	0.00	1.93	1.68	1.91	1.69
9群（嗜好飲料）	0.00	0.00	0.00	0.00	5.26	6.66	5.26	6.66
10群（魚介類）	31.87	1.26	5.13	2.64	31.87	1.26	5.13	2.64
11群（肉類・卵類）	0.00	0.00	0.00	0.00	1.51	1.33	1.50	1.31
12群（乳・乳製品）	0.00	0.00	0.00	0.00	1.35	1.19	1.35	1.19
13群（調味料類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.69	0.65	0.69	0.65
14群（飲料水）	0.00	0.00	0.00	0.00	2.50	2.50	2.50	2.50
総摂取量	32	1.3	5.1	2.6	56	23	30	25
体重あたりの総摂取量（ng/kg bw/day）	0.64	0.025	0.10	0.053	1.1	0.47	0.59	0.49

PFHxS (ng/day)

食品群	LB (< LOQ = 0)				UB (< LOQ = LOQ)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	0.00	0.00	0.00	0.00	2.35	1.90	2.35	1.90
2群（穀類・芋類・種実類）	0.00	0.00	0.00	0.00	1.59	0.69	1.59	0.70
3群（砂糖類・菓子類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.19	0.15	0.19	0.15
4群（油脂類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	0.05	0.05
5群（豆類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.28	0.31	0.28	0.29
6群（果実類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.47	0.41	0.47	0.41
7群（緑黄色野菜）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	0.35	0.39	0.36
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.91	0.80	0.91	0.80
9群（嗜好飲料）	0.00	0.00	0.00	0.00	2.49	3.16	2.49	3.16
10群（魚介類）	10.30	0.00	1.91	0.00	10.30	0.25	1.91	0.24
11群（肉類・卵類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.71	0.63	0.71	0.62
12群（乳・乳製品）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.64	0.56	0.64	0.56
13群（調味料類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.31	0.33	0.31
14群（飲料水）	0.00	0.00	0.00	0.00	1.18	1.18	1.18	1.18
総摂取量	10	0.0	1.9	0.0	22	11	14	11
体重あたりの総摂取量（ng/kg bw/day）	0.21	0.0	0.038	0.0	0.44	0.21	0.27	0.21

PFNA (ng/day)

食品群	LB (< LOQ = 0)				UB (< LOQ = LOQ)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	0.00	0.00	0.00	0.00	7.43	6.01	7.43	6.01
2群（穀類・芋類・種実類）	0.00	0.00	0.00	0.00	5.04	2.17	5.05	2.21
3群（砂糖類・菓子類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.61	0.47	0.61	0.47
4群（油脂類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.16	0.16	0.16	0.16
5群（豆類）	0.00	0.00	0.00	0.00	0.89	0.97	0.89	0.90
6群（果実類）	0.00	0.00	0.00	0.00	1.50	1.28	1.50	1.28
7群（緑黄色野菜）	0.00	0.00	0.00	0.00	1.26	1.09	1.25	1.13
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	0.00	0.00	0.00	0.00	2.89	2.52	2.87	2.53
9群（嗜好飲料）	0.00	0.00	0.00	0.00	7.89	9.99	7.89	9.99
10群（魚介類）	61.18	3.17	11.66	3.35	61.18	3.17	11.66	3.35
11群（肉類・卵類）	0.00	0.00	0.00	0.00	2.26	2.00	2.25	1.96
12群（乳・乳製品）	0.00	0.00	0.00	0.00	2.02	1.79	2.02	1.79
13群（調味料類）	0.00	0.00	0.00	0.00	1.04	0.98	1.04	0.98
14群（飲料水）	0.00	0.00	0.00	0.00	3.75	3.75	3.75	3.75
総摂取量	61	3.2	12	3.3	98	36	48	36
体重あたりの総摂取量（ng/kg bw/day）	1.2	0.063	0.23	0.067	2.0	0.73	0.97	0.73

表 4　PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の総摂取量に対する各群の寄与率

PFOS

食品群	LB (< LOQ = 0)				UB (< LOQ = LOQ)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9	8.9	2.9	9.0
2群（穀類・芋類・種実類）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	3.2	2.0	3.3
3群（砂糖類・菓子類）	0.2	0.0	0.8	0.0	0.2	0.7	0.7	0.7
4群（油脂類）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.1	0.2
5群（豆類）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	1.4	0.3	1.3
6群（果実類）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	1.9	0.6	1.9
7群（緑黄色野菜）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	1.6	0.5	1.7
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	3.8	1.1	3.8
9群（嗜好飲料）	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	14.9	3.1	14.9
10群（魚介類）	99.5	90.2	99.2	78.1	95.4	48.3	85.1	41.6
11群（肉類・卵類）	0.3	9.8	0.0	21.9	0.3	5.2	0.9	11.7
12群（乳・乳製品）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	2.7	0.8	2.7
13群（調味料類）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	1.5	0.4	1.5
14群（飲料水）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	5.6	1.5	5.6
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

PFOA

食品群	LB (< LOQ = 0)				UB (< LOQ = LOQ)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	0.0	0.0	0.0	0.0	8.8	17.1	16.7	16.2
2群（穀類・芋類・種実類）	0.0	0.0	0.0	0.0	6.0	6.2	11.4	6.0
3群（砂糖類・菓子類）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	1.3	1.4	1.3
4群（油脂類）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.4	0.4	0.4
5群（豆類）	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	2.8	2.0	2.4
6群（果実類）	0.0	0.0	0.0	0.0	1.8	3.7	3.4	3.5
7群（緑黄色野菜）	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	3.1	2.8	3.0
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	0.0	0.0	0.0	0.0	3.4	7.2	6.5	6.8
9群（嗜好飲料）	0.0	0.0	0.0	0.0	9.3	28.5	17.8	26.9
10群（魚介類）	100.0	100.0	100.0	100.0	56.5	5.4	17.3	10.7
11群（肉類・卵類）	0.0	0.0	0.0	0.0	2.7	5.7	5.1	5.3
12群（乳・乳製品）	0.0	0.0	0.0	0.0	2.4	5.1	4.6	4.8
13群（調味料類）	0.0	0.0	0.0	0.0	1.2	2.8	2.3	2.6
14群（飲料水）	0.0	0.0	0.0	0.0	4.4	10.7	8.4	10.1
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

PFHxS

食品群	LB (< LOQ = 0)				UB (< LOQ = LOQ)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	0.0	N/A	0.0	N/A	10.7	17.7	17.4	17.7
2群（穀類・芋類・種実類）	0.0	N/A	0.0	N/A	7.3	6.4	11.8	6.5
3群（砂糖類・菓子類）	0.0	N/A	0.0	N/A	0.9	1.4	1.4	1.4
4群（油脂類）	0.0	N/A	0.0	N/A	0.2	0.5	0.4	0.5
5群（豆類）	0.0	N/A	0.0	N/A	1.3	2.9	2.1	2.7
6群（果実類）	0.0	N/A	0.0	N/A	2.2	3.8	3.5	3.8
7群（緑黄色野菜）	0.0	N/A	0.0	N/A	1.8	3.2	2.9	3.3
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	0.0	N/A	0.0	N/A	4.2	7.4	6.7	7.5
9群（嗜好飲料）	0.0	N/A	0.0	N/A	11.4	29.4	18.5	29.4
10群（魚介類）	100.0	N/A	100.0	N/A	47.0	2.3	14.1	2.3
11群（肉類・卵類）	0.0	N/A	0.0	N/A	3.3	5.9	5.3	5.8
12群（乳・乳製品）	0.0	N/A	0.0	N/A	2.9	5.3	4.7	5.3
13群（調味料類）	0.0	N/A	0.0	N/A	1.5	2.9	2.4	2.9
14群（飲料水）	0.0	N/A	0.0	N/A	5.4	11.0	8.8	11.1
合計	100.0	N/A	100.0	N/A	100.0	100.0	100.0	100.0

PFNA

食品群	LB (< LOQ = 0)				UB (< LOQ = LOQ)			
	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04	2022-03	2022-04	2023-03	2023-04
1群（米）	0.0	0.0	0.0	0.0	7.6	16.5	15.4	16.5
2群（穀類・芋類・種実類）	0.0	0.0	0.0	0.0	5.2	6.0	10.4	6.1
3群（砂糖類・菓子類）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	1.3	1.3	1.3
4群（油脂類）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.4	0.3	0.4
5群（豆類）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9	2.7	1.8	2.5
6群（果実類）	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	3.5	3.1	3.5
7群（緑黄色野菜）	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3	3.0	2.6	3.1
8群（その他の野菜類・きのこ類・海藻類）	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	6.9	5.9	6.9
9群（嗜好飲料）	0.0	0.0	0.0	0.0	8.1	27.5	16.3	27.4
10群（魚介類）	100.0	100.0	100.0	100.0	62.5	8.7	24.1	9.2
11群（肉類・卵類）	0.0	0.0	0.0	0.0	2.3	5.5	4.7	5.4
12群（乳・乳製品）	0.0	0.0	0.0	0.0	2.1	4.9	4.2	4.9
13群（調味料類）	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1	2.7	2.1	2.7
14群（飲料水）	0.0	0.0	0.0	0.0	3.8	10.3	7.8	10.3
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

N/A, not applicable: 分析値がLOQ未満を示したため、寄与率算出の対象外

Ⅱ．分担研究報告書

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

(1-4)乳幼児の一食分試料を用いたダイオキシン類摂取量調査

研究分担者　堤　智昭

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 （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のための研究

分担研究報告書

(1)食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究
(1-4)乳幼児の一食分試料を用いたダイオキシン類摂取量調査

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

乳幼児は有害化学物質の影響を受けやすいと考えられることから、乳幼児期における食品を介した有害物質の摂取量を調査することは重要である。令和4年度に作製した一食分試料のDXNs分析を実施し、その分析結果に基づき乳幼児の昼食におけるDXNs摂取量を推定した。一食分試料からのDXNs摂取量の平均値（範囲）は、乳児で1.2 pg TEQ/食（0.042～15 pg TEQ/食）、幼児で5.7 pg TEQ/食（0.011～78 pg TEQ/食）であった。幼児の一食分試料の平均値は乳児と比較すると5倍程度高かった。幼児では脂肪含量が比較的高い魚を使用した一食分試料が多かったため、DNXs摂取量が高くなったと考えられた。乳児の体重を8.64 kg、幼児の体重を10.1 kgと仮定した場合、一食分試料からのDXNs摂取量（平均値）の日本の耐容一日摂取量（4 pg TEQ/kg bw/day）に占める割合は、乳児で3%程度、幼児で14%程度であった。一方で、一日に3回喫食したと仮定すると、TDIを超過する試料も認められたことから、特定の種類や産地の食品を過度に摂取するのではなく、多様な食品を含むバランスの良い食生活を送ることが重要であると考えられる。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

高附 巧、張 天斉、五十嵐敦子、川又香予、鍋師裕美

A. 研究目的

食事を介した有害物質の摂取量を推定することは、人の健康リスクの評価やリスク管理の必要性の検討に重要な情報を与える。本分担研究の他の研究課題ではマーケットバスケット方式により調製したトータルダイエット（TD）試料を分析することで、ダイオキシン類（DNXs）やポリ塩化ビフェニル（PCBs）等の摂取量推定を継続して調査している。通常、TD 試料は、国民健康・栄養調査で得られた食品小分類の一日摂取量（1歳以上の全年齢層）の平均値に基づいて作製される。従って、この様に作製された TD 試料を用いた有害物質の摂取量は国民の平均的な一日摂取量となる。しかし、乳幼児のように有害物質の影響を受けやすいと考えられる集団については、食品の摂取状況が全年齢層とは大きく異なるため、上述したTD試料を用いた調査では乳幼児における摂取量を推定するのは困難と考えられる。

本研究では、保育園給食の献立を参考に乳幼児が食する一食分試料（昼食）を作製し、DXNs や PCBs の摂取量を推定するための試料とした。令和4年度には、乳幼児の一食分試料を作製した [1)]。令和 5 年度には、それらの試料の

PCBs 分析を行い、その分析結果に基づき乳幼児の昼食におけるPCBs摂取量を推定した[2)]。今年度は、これらの一食分試料の DXNs 分析を実施し、その分析結果に基づき乳幼児の昼食におけるDXNs摂取量を推定した。

B. 研究方法

1. 一食分試料

令和4年度に作製した乳児(9～11ヶ月想定、32 試料)及び幼児(1～2 歳想定、32 試料)の一食分試料を分析試料とした。一食分試料の詳細については、R5 年度の報告書[2)]に示した。乳児の一食分試料は、各試料について“主食・汁物”(食品区分 A)、“その他”(食品区分 B)、及び“ミルク”(食品区分 C)の 3 つに分けて均一化した後、各々をDXNs分析に供した。ただし、ミルクについては主な 3 つの製造会社の調製粉乳を各々の製品に記載の調製方法に従い調製した後、DXNs 分析に供した。幼児の一食分試料は、各試料について“主食・汁物”(食品区分 A)及び“その他”(食品区分 B)の 2 つに分けて均一化した後、各々をDXNs分析に供した。全ての試料は分析に供すまで-30℃で保存した。

2. DXNs 分析

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」(以下、ガイドライン)[3)]に準じた

2-1. 試験溶液の調製

2-1-1. “その他”及び“ミルク”の試料

均一化した試料100.0 gをビーカーに量りとり、クリーンアップスパイク(^{13}C 標識した PCDD/PCDFs 各 40 pg(OCDD/OCDF は 80 pg)、ノンオルトPCBs 各100 pg、モノオルトPCBs 各2.5 ng)を加えた後、2 mol/L 水酸化カリウム水溶液を 200 mL 加え室温で約 16 時間放置した。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 150 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。ヘキサン層を合わせ、2%塩化ナトリウム溶液 150 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、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルカラムをヘキサン 200 mL で洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサン 200 mL で溶出した。溶出液は溶媒を留去し、約 2 mL のヘキサンに溶解した。ヘキサンで湿式充填したアルミナカラムに試験溶液を注入し、ヘキサン 150 mL で洗浄後、2%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 200 mL 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 200 mL 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500 μL(^{13}C 標識体 2.5 ng)を添加し高分解能 GC/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スカラムに注入し、10分程度放置した。25%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 80 mL でカラムを洗浄後、カラムを反転させ、トルエン80 mL で PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリンジスパイク20 μL(PCDD/PCDFs 用 ^{13}C 標識体 40 pg、ノンオルトPCB 用 ^{13}C 標識体 100 pg)を添加し高分解能 GC/MS に供した。

2-1-2. “主食・汁物”の試料

均一化した試料 100.0 g をナスフラスコに量りとり、クリーンアップスパイク(^{13}C 標識した PCDD/PCDFs 各 40 pg(OCDD/OCDF は 80 pg)、ノンオルトPCBs 各100 pg、モノオルトPCBs 各2.5 ng)を加えた後、アセトン 150 mL、ヘキサン 150 mL を加え 1 時間振とう抽出をした。抽

出溶液を吸引ろ過し、残渣にアセトン 50 mL、ヘキサン 50mL を加え 15 分間振とうし、同様の操作を行なった。抽出液を分液ロートに合わせ、2%塩化ナトリウム溶液 150 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、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。この溶液を 2-1-1 で記述したように多層シリカゲルカラム、アルミナカラム、及び活性炭分散シリカゲルリバースカラムにより精製後、シリンジスパイクを添加し高分解能 GC/MS に供した。

2-2. 高分解能 GC/MS 測定条件

高分解能 GC/MS: 7890B (Agilent Technologies) /MStation JMS-800D UltraFOCUS 日本電子(株)社製

1)GC 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(内径 0.32 mm×60 m、膜厚 0.25 μm)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:250℃

注入量:3.0 μL

昇温条件:130℃(2 分保持)-30℃/分-200℃-5℃/分-220℃(16 分保持)-6℃/分-300℃(10 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.8 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 μm)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:250℃

注入量:3.0 μL

昇温条件:130℃(2 分保持)-30℃/分-200℃-3℃/分- 280℃(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(内径 0.22 mm×50 m、膜厚 0.25 μm)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:3.0 μL

昇温条件:130℃(1 分保持)-15℃/分-220℃(5 分保持)-2℃/分-300℃(1 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.2 mL/分)

2)MS 条件

MS 導入部温度 : 280℃

イオン源温度 : 280℃

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

モニターイオン : ガイドライン[3]に準じた。

2-3. 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。

DXNs 各異性体の検出下限値(LOD)は、最低濃度の検量線作成用標準液を 3 倍に希釈した標準溶液を GC/MS により分析し、S/N=3 に相当する濃度を検出下限値(LOD)として求めた。また、操作ブランク試験を 5 回行い、ブランクが認められる分析対象物については、ブランクの標準偏差の 3 倍を LOD として求めた。S/N から算出した値と比較し、大きい方を LOD とした。本分析法の検出下限値は、PCDD/PCDFs については、4 塩素化物及び 5 塩素化物が 0.001 pg/g、6 塩

素化物及び 7 塩素化物が 0.002 pg/g、8 塩素化物が 0.005 pg/g であった。Co-PCBs については、ノンオルト PCBs が 0.01 pg/g、及びモノオルト PCBs が 0.1 pg/g であった。

2-4. DXNs 摂取量の推定

一食分試料における各食品区分の分析対象物の濃度に、各食品区分の食品重量を乗じて DXNs 摂取量を計算した。ただし、乳児の一食分試料のミルクについては、作製に使用する調製粉乳の DXNs 含有濃度は、製造工程を考慮すると狭い範囲であると予測された。そこで、主な3つの製造会社の調製粉乳より調製したミルクを分析し、それらの DXNs 濃度の平均値と一食分のミルクの食品重量(80.0 g)を乗じた値をミルクからの DXNs 摂取量とし、全ての乳児の一食分試料に適用した。従って、乳児の各一食分試料のミルクからの DXNs 摂取量は同一の値となる。また、本研究では試料中の濃度が LOD 未満の異性体をゼロ(ND=0)として計算した

C. 研究結果及び考察

乳児及び幼児の一食分試料(昼食、各 32 試料)からの DXNs 摂取量の詳細については、付表 1 及び付表 2 に示した。DXNs 摂取量のヒストグラムを図 1 に示した。いずれのヒストグラムも DXNs 摂取量が高い方に裾を引いた分布となった。両者のヒストグラムを比較すると、乳児の一食分試料からの DXNs 摂取量は、幼児と比較すると低い方に分布していた。 乳児の一食分試料では水分含量が多い献立である 5 倍がゆや汁物等、一般的に DXNs 濃度が低い食品を含むために、一食分試料からの DXNs 摂取量が全体的に低くなったものと考えられた。また、一食あたりの DXNs 摂取量が 10 pg TEQ/食を超えた試料は、乳児では 1 試料(No.18)のみであったが、幼児では 5 試料(No. 5、No.10、No.20、No.28、No.29)あった。これらの試料はいずれも魚が食材に含まれていた。図 2 には一食分試料における各食品区分の DXNs 摂取量に占める割合を示した。DXNs 摂取量が 10 pg TEQ/食を超えた上記の一食分試料については、いずれも魚の食材が含まれる“その他”からの DXNs 摂取量が多く、全体に占める割合が比較的高くなっていた(88%以上)。乳児の No.18 はメカジキ、幼児の No.5 はブリ、No.10 はサワラ、No.20 はムキガレイ、No.28 はサバ、No.29 はサケが含まれており、これらの食材の DXNs 濃度が比較的高かったことが推察される。特に幼児では脂肪含量が比較的高いブリ、サバ、ムキガレイ等を食材に使用していることから一食あたりの DXNs 摂取量が高くなったと考えられた。

一食分試料からの DXNs 摂取量の統計量を表 1 に示した。乳児の一食分試料からの DXNs 摂取量は、平均値が 1.2 pg TEQ/食、中央値が 0.24 pg TEQ/食、範囲が 0.042～15 pg TEQ/食であった。幼児の一食分試料からの DXNs 摂取量は、平均値が 5.7 pg TEQ/食、中央値が 1.2 pg TEQ/食、範囲が 0.011～78 pg TEQ/食であった。幼児の DXNs 摂取量の平均値は乳児と比較すると 5 倍程度高かった。体重あたりの摂取量については、平成 22 年乳幼児身体発育調査(厚生労働省)[4]を参考に、乳児については 10～11 ヶ月男女の平均体重(8.64 kg)、幼児については 1 歳 6～7 ヶ月男女の平均体重(10.1 kg)を用いて算出した。一食あたりの DXNs 摂取量の平均値は、乳児で 0.13 pg TEQ/kg bw/食、幼児で 0.56 pg TEQ/kg bw/食となり、日本の耐容一日摂取量(TDI:4 pg TEQ/kg bw/day)に占める割合は、乳児で 3%程度、幼児で 14%程度であった。今回は昼食のみを調査対象としていることから、朝食や夕食を含めた一日あたりの摂取量を推定することは難しいものの、今回の献立に基づいた一食分試料を一日に 3 回喫食したと仮定した場合の平均的な DXNs 摂取量についても TDI を下回ると考えられた。一方で、乳児で最大の摂取量となった No.18、及び幼児の No.5、No.10、No.20、No.28 については、一日に 3 回喫食したと仮定すると、TDI を超過する。DXNs 摂取量を

低減する観点からも、特定の種類や産地の食品を過度に摂取するのではなく、多様な食品を含むバランスの良い食生活を送ることが重要であると考えられる。

D. 結論

一食分試料の DXNs 分析結果に基づき、乳幼児の昼食からの DXNs 摂取量を推定した。一食分試料からの DXNs 摂取量の平均値は乳児で 1.2 pg TEQ/食、幼児で平均値が 5.7 pg TEQ/食であった。幼児の一食分試料の平均値は乳児と比較すると 5 倍程度高かった。一食分試料からの DXNs 摂取量(平均値)の TDI に占める割合は、乳児で 3%程度、幼児で 14%程度であった。一方で、一日に 3 回喫食したと仮定すると、TDI を超過する試料も認められたことから、特定の種類や産地の食品を過度に摂取するのではなく、多様な食品を含むバランスの良い食生活を送ることが重要であると考えられる。

E. 参考文献

1) 令和 4 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 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のための研究」分担研究報告書(食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究)
2) 令和 5 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 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のための研究」分担研究報告書(食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究)
3) 食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン、食安監発第 0228003(平成 20 年 2 月 28 日)
4) 厚生労働省雇用均等・児童家庭局 平成 22 年乳幼児身体発育調査報告書 平成 23 年 10 月

F.研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

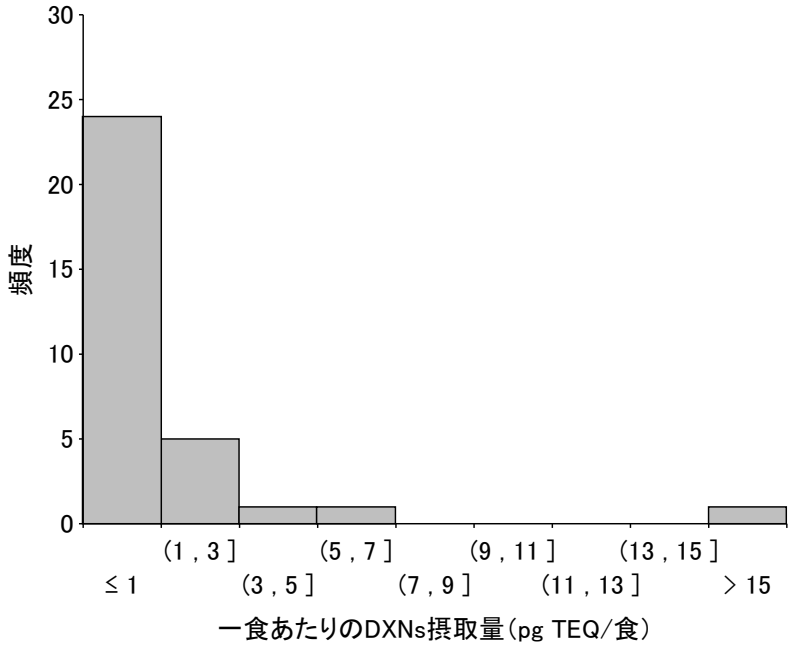
なし

表1 一食分試料からの DXNs 摂取量の統計量

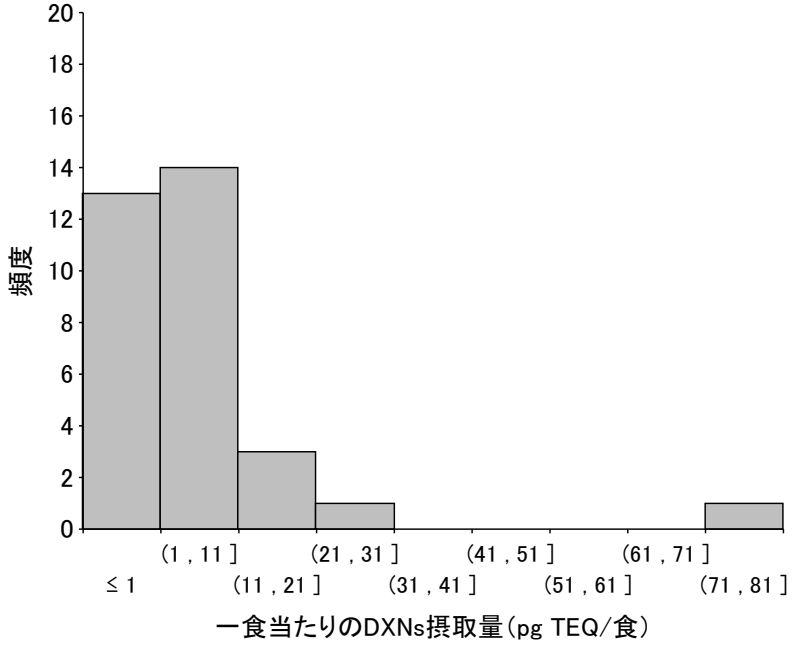
		乳児（n = 32）				幼児（n = 32）			
		平均値	最小値	中央値	最大値	平均値	最小値	中央値	最大値
PCDD/PCDFs	pg TEQ/食	0.53	0.039	0.15	3.1	1.9	0.0037	0.66	15
	(pg TEQ/kg bw/食)*	(0.061)	(0.0045)	(0.018)	(0.35)	(0.19)	(0.00037)	(0.066)	(1.5)
Co-PCBs	pg TEQ/食	0.64	0.0016	0.0057	12	3.8	0.0023	0.47	63
	(pg TEQ/kg bw/食)	(0.074)	(0.00019)	(0.00066)	(1.4)	(0.38)	(0.00023)	(0.046)	(6.2)
Dioxins **	pg TEQ/食	1.2	0.042	0.24	15	5.7	0.011	1.2	78
	(pg TEQ/kg bw/食)	(0.13)	(0.0048)	(0.028)	(1.8)	(0.56)	(0.0011)	(0.12)	(7.7)

＊( )内は体重あたりの摂取量を示す。平成22年乳幼児身体発育調査（厚生労働省）を参考に、乳児については10～11か月男女の平均体重（8.64 kg）、幼児については1歳6～7か月男女の平均体重（10.1 kg）を用いた。

** PCDD/PCDFs+Co-PCBs

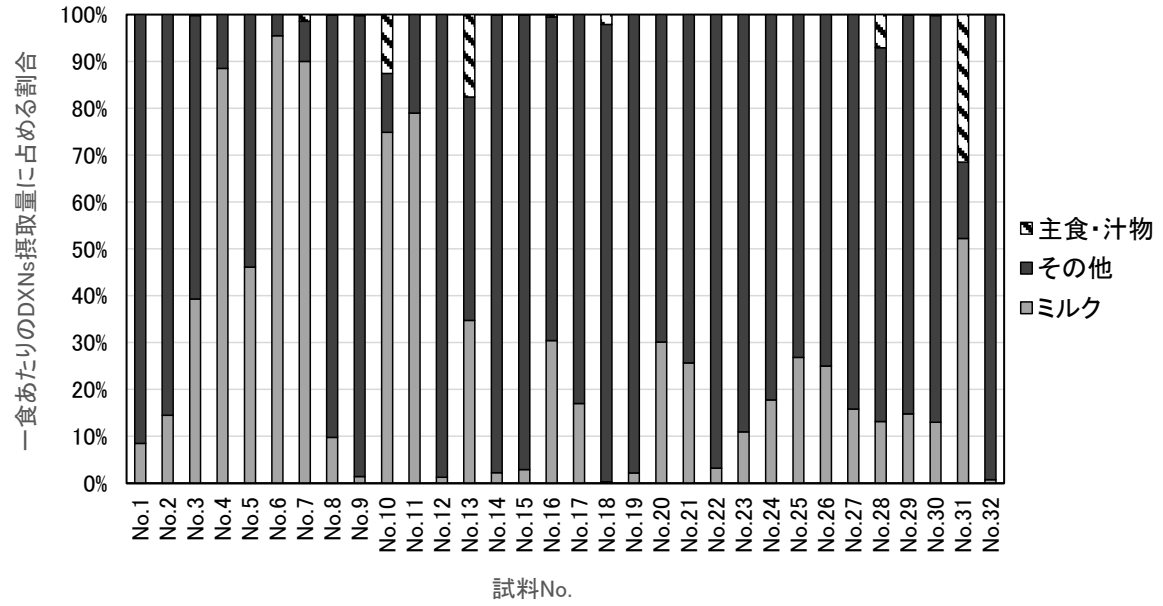


(a) 乳児の一食分試料

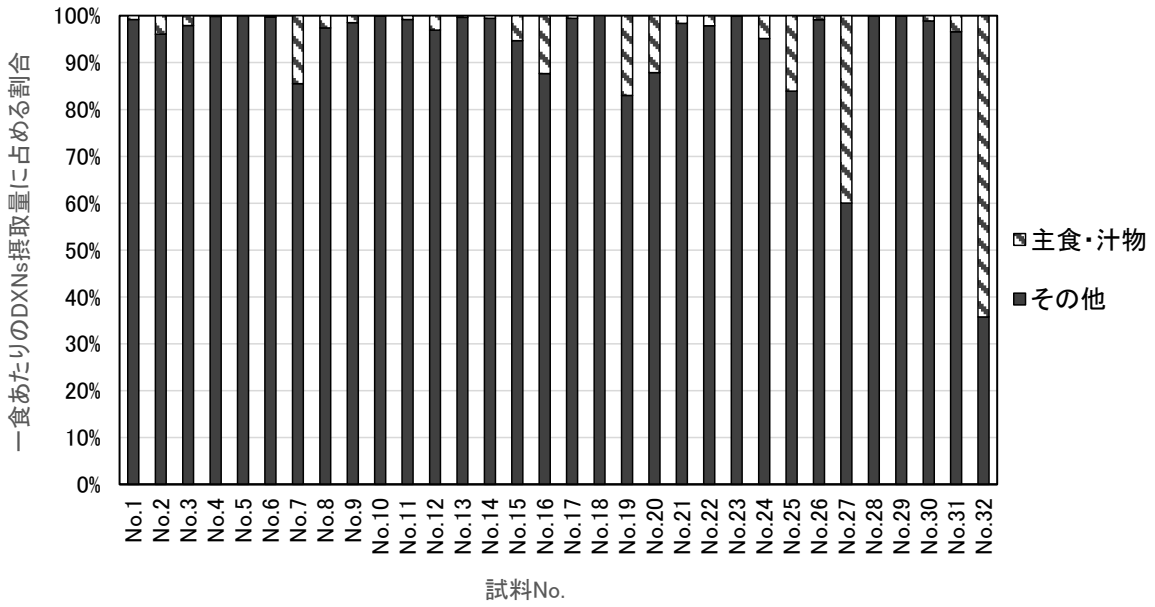


(b) 幼児の一食分試料

図 1　乳幼児の一食分試料からの DXNs 摂取量(ヒストグラム)



(a) 乳児の一食分試料



(b) 幼児の一食分試料

図 2　一食あたりの総 PCBs 摂取量に占める各食品区分の割合

付表 1　乳児の一食分試料(昼食)からの DXNs 摂取量

(pg TEQ/食)

No.	PCDD/PCDFs	Co-PCBs	Dioxins (PCDD/PCDFs+Co-PCBs)
1	0.28	0.19	0.47
2	0.27	0.0036	0.27
3	0.065	0.036	0.10
4	0.041	0.0039	0.045
5	0.056	0.030	0.086
6	0.039	0.0026	0.042
7	0.041	0.0030	0.044
8	0.085	0.32	0.41
9	0.56	2.3	2.8
10	0.051	0.0017	0.053
11	0.048	0.0027	0.050
12	2.8	0.34	3.2
13	0.080	0.035	0.11
14	1.6	0.22	1.8
15	0.53	0.84	1.4
16	0.056	0.075	0.13
17	0.23	0.0052	0.23
18	3.1	12	15
19	1.8	0.0025	1.8
20	0.13	0.0022	0.13
21	0.15	0.0031	0.15
22	1.2	0.0021	1.2
23	0.36	0.0063	0.36
24	0.086	0.14	0.22
25	0.15	0.0018	0.15
26	0.16	0.0016	0.16
27	0.077	0.17	0.25
28	0.18	0.12	0.30
29	0.26	0.0046	0.27
30	0.30	0.0029	0.31
31	0.073	0.0029	0.076
32	2.0	3.4	5.3

付表 2　幼児の一食分試料(昼食)からの DXNs 摂取量

(pg TEQ/食)

No.	PCDD/PCDFs	Co-PCBs	Dioxins (PCDD/PCDFs+Co-PCBs)
1	0.94	3.1	4.0
2	0.71	0.0037	0.71
3	0.47	0.011	0.48
4	0.67	0.49	1.2
5	15	63	78
6	0.12	0.17	0.28
7	0.080	0.14	0.22
8	0.38	0.16	0.54
9	0.40	0.76	1.2
10	5.7	10	16
11	0.66	1.3	1.9
12	0.23	0.48	0.71
13	0.45	4.4	4.9
14	0.99	1.1	2.1
15	0.63	0.0072	0.64
16	0.014	0.0055	0.019
17	1.2	0.063	1.2
18	0.027	0.0023	0.030
19	0.26	0.16	0.42
20	14	7.7	21
21	2.5	0.010	2.5
22	0.67	0.58	1.2
23	0.38	2.3	2.7
24	0.67	0.97	1.6
25	0.0037	0.0071	0.011
26	0.82	0.74	1.6
27	2.7	0.0057	2.7
28	5.9	14	20
29	2.3	8.9	11
30	0.15	0.0048	0.16
31	0.97	0.46	1.4
32	0.53	0.0084	0.54

Ⅱ．分担研究報告書

⑵食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

研究分担者　鈴木　美成

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

（2）食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

研究分担者　鈴木美成 国立医薬品食品衛生研究所食品部

研究要旨

本研究では、2024 年にマーケットバスケット方式により調製したトータルダイエット (TD) 試料の分析を通じ、ヒ素 [総ヒ素及び無機ヒ素 (iAs) を含むヒ素化学種]、カドミウム、水銀 [総水銀及びメチル水銀 (Me-Hg)]、鉛を含む 42 元素及び 5 化学種の全国・全年齢層における平均摂取量 (推定一日摂取量) を推定した。その結果、不検出値に定量下限値の半値を代入して算出した各元素類の推定一日摂取量は、B: 1217 μg/person/day、Al: 2613 μg/person/day、V: 12.0 μg/person/day、Cr: 61.2 μg/person/day、Mn: 3800 μg/person/day、Co: 9.52 μg/person/day、Ni: 154 μg/person/day、As: 219 μg/person/day、iAs: 21.2 μg/person/day、Se: 90.6 μg/person/day 、Mo: 220 μg/person/day 、Cd: 13.4 μg/person/day 、Sn: 339 μg/person/day、Sb: 1.23 μg/person/day、Ba: 410 μg/person/day、Hg: 5.04 μg/person/day、Me-Hg: 3.69 μg/person/day 、Tl: 1.61 μg/person/day 、Pb: 3.96 μg/person/day 、U: 1.11 μg/person/day であった。

各元素類の摂取量及び、各元素類の摂取に寄与する食品群について解析した。また、耐用摂取量等の Health-based guideline value (HBGV) が設定されている元素類については、必要に応じて一日当たりの値に換算した後、推定一日摂取量と HBGV の比 (ハザード比、HQ) を求めた。その結果、HQ は iAs (1.28 – 1.80)、Ni (0.14 – 1.00)、Mo (0.80)、Cd (0.24 – 0.68)、Mn (0.49)、Ba (0.04 – 0.37)、Me-Hg (0.24 – 0.36)、Al (0.16 – 0.33)、B (0.11 – 0.23) の順で高い値を示した。 さらに、Pb、Cd、As、Hg については、1977 年以後に推定された摂取量の経年変化の情報を更新した。また、健康リスクの高い iAs については地域別・年齢層別の摂取量を、幼児の Pb については確率論的な摂取量推定も検討した。また、推定一日摂取量を算出する際の、各種重み付け方法について比較した。

研究協力者

北海道立衛生研究所	青柳 直樹、市橋 大山、吉田 優也
新潟県保健環境科学研究所	五井 千尋
横浜市衛生研究所	石井敬子、前川ゆずは、森田昌弘
名古屋市衛生研究所	野口昭一郎、高木恭子、宮崎仁志
和歌山県環境衛生研究センター	新宅 沙織
香川県環境保健研究センター	安永 恵、櫻井 麻里南
福岡県保健環境研究所	中村 麻子、新谷 依子、堀 就英
沖縄県衛生環境研究所	仲眞 弘樹
国立医薬品食品衛生研究所食品部	高橋 未来

A. 研究目的

有害物質の摂取量推定値は、健康リスクの管理を目的とする規格値策定等の行政施策の検討、及び行政施策の効果検証するための重要な科学的根拠となる。

これまでの研究班においては、健康リスクの大きさや懸念の蓋然性を指標に、摂取評価の対象となる有害物質が選定されてきた。一方で、最近の研究動向としては、ノンターゲット分析 (元素分析の研究分野においてメタロミクスといったオミクス研究) に代表される網羅的分析が発展してきている。機器分析の発展に伴いより低濃度の物質を測定することが容易になってきたこと、様々な物質が産業利用されるようになったことが、網羅的分析の必要性が高まってきた背景にある。

元素分析の分野においても、全ての元素は普遍的に含まれているという拡張元素普存説が提唱され、この考えを実証する研究成果が発表されてきている。つまり、食品を介した元素類の摂取は避けることのできないリスクであり、人為的に合成した化学物質とは異なる点となる。

誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) 法は、高いイオン化効率・広いダイナミックレンジ・多元素分析の適用性といった理由から、様々な試料中で 30 元素以上の網羅的分析の結果が報告されている。そこで本研究では、有害物質として知られるヒ素 [総ヒ素 (As) 並びに無機ヒ素 (iAs) を含むヒ素化合物]、カドミウム (Cd)、水銀 [総水銀 (Hg) 及びメチル水銀 (Me-Hg)]、鉛 (Pb) だけでなく、ICP-MS の特性を活かした網羅的分析を行った。

マーケットバスケット方式によるトータルダイエット (TD) 試料の分析により、日常的な食事を通じた国民平均の一日摂取量を推定した。本研究に用いた TD 試料は、全国 10 地域の地方衛生研究所等により調製された。TD 試料中の各種元素類の分析は国立医薬品食品衛生研究所において実施した。

地方自治体所管の衛生研究所等に毎年ご協力を受けながら、元素類の摂取量推定を継続している。本報告書では、上記元素類の全国・全年齢層における平均摂取量の推定を目的に、2024 年に実施した TD 研究の成果を報告する。さらに、

1977年以後に継続して推定しているAs、Cd、Hg、及び Pb の摂取量については、情報を更新し報告する。

B. 研究方法

1. TD 試料の調製

2017 年から 2019 年に行われた国民健康・栄養調査のデータ 22,742 件 (2017 年: 8027 件、2018 年: 7895 件、2019 年: 6820 件) のうち、喫食量のデータがあった 19,753 件を TD 試料作製のために解析した。各地域ブロック (北海道: 北海道、東北: 青森県、岩手県、秋田県、宮城県、山形県、福島県、関東 I: 埼玉県、千葉県、東京都、神奈川県、関東 II: 茨城県、栃木県、群馬県、山梨県、長野県、北陸: 新潟県、富山県、石川県、福井県、東海: 岐阜県、愛知県、三重県、静岡県、近畿 I: 京都府、大阪府、兵庫県、近畿 II: 奈良県、和歌山県、滋賀県、中国: 鳥取県、島根県、岡山県、広島県、山口県、四国: 徳島県、香川県、愛媛県、高知県、北九州: 福岡県、佐賀県、長崎県、大分県、南九州: 熊本県、宮崎県、鹿児島県、沖縄県) における各食品小分類の一日当たりの喫食量の算術平均値を算出した (Table 1)。なお、集計及び解析は独自に行ったものであり、公表数と一致しない場合がある。

日本人の日常的な食事 (日常食) からの各元素類摂取量を推定するため、日常食のモデルとなる TD 試料をマーケットバスケット方式により調製した。混合・均質化の際に組み合わせる食品の小分類に応じて、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。また、各食品群の喫食量が地域ブロック間で差があるとはいえなかった (p=0.922、χ^2-test)。

全国 10 地域における TD 試料の調製は、地方衛生研究所等で 2023 年 5 月から 10 月までの間に調製された。小売店から食品を購入し、該当地域における一日当たりの喫食量に従って秤量し、茹でる、焼く等の一般的な調理を行ってから、混合・均質化することで TD 試料を調製した。分析に必要な均質性を確保する目的から、調製時に試料に加水される場合があるが、その量は、元素濃度を算出する過程において考慮した。また、14 群の喫食量は 250 g/day とした。

各地域で調製された TD 試料は、変質等による分析結果への影響に配慮し、プラスチック製バック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された。全ての化学分析は、国立医薬品食品衛生研究所で実施した。

2. 試薬

超純水は Milli Q Element A10 (メルク社製) により製造したもの (比抵抗: >18.2 MΩ・cm、TOC: <3 ppb) を使用した。硝酸 (1.42 Ultrapur-100) 、過酸化水素水 (Ultrapure)、ひ素標準液 (As 100)、及び 25%アンモニア水 (有害金属測定用) は関東化学株式会社から購入したものを使用した。L-システイン塩酸塩一水和物 (特級)、25%テトラメチルアンモニウムヒドロキシド (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) は富士フィルム和光純薬社製のものを使用した。

多元素混合標準溶液としてSPEX社製のXSTC-622とXSTC-1を用い、一部の元素標準溶液にはシグマアルドリッチ社製(1000 mg/L Be, Ga, Y, In, Tl, Bi 標準溶液、Trace CERT)、あるいは関東化学社製 (Nd, Sm, Gd 標準溶液) のものを用いた。

水銀分析にはICP-MS用1000 mg/L 水銀標準原液 (シグマアルドリッチ社製)、L-システイン (ナカライテスク社製)、添加剤 B (日本インスツルメンツ社製) を用いた。

ヒ素の化学形態別分析には、亜ひ酸[As(III); 原子吸光分析用、関東化学社製]、ひ酸 [As(V); NMIJ CRM 7912-a]、モノメチルアルソン酸 (MMAs; Tri Chemical Laboratories Inc.)、ジメチルアルシン酸(DMAs; NMIJ CRM 7913-a、AIST NMIJ)、アルセノベタイン (AsB; NMIJ CRM 7901-a、AIST NMIJ) を、メチル水銀の分析には塩化メチル水銀 (ジーエルサイエンス社製)を用いた。

人工唾液には、富士フィルム和光純薬社製のαアミラーゼ (生化学用)、ムチン (ブタ胃由来)、尿酸 (99%)、塩化ナトリウム (残留農薬・PCB試験用)、チオシアン酸ナトリウム (試薬特級)、リン酸二水素カリウム (試薬特級)、炭酸水素ナトリウム (食品添加物)、塩化カリウム (試薬特級)、塩化カルシウム二水和物 (試薬特級)、硫酸ナトリウム (残留農薬・PCB 試験用)、関東化学社製の尿素 (特級)を用いた。

3. 分析機器

元素分析にはICP-MS (iCAPQ、サーモフィッシャーサイエンティフィック社製) を用いた。ICP-MS 分析の前処理に使用するマイクロ波分解装置は、ETHOS-One 及びETHOS-TC (ともにマイルストーンゼネラル社製) を用いた。ヒ素及び水銀の化学形態別分析には、HPLC (Prominence、島津製作所社製) と ICP-MS (iCAPRQ、サーモフィッシャーサイエンティフィック社製) を接続したハイフネーションシステムを採用した。T-Hg の分析には総水銀計 (MA-3000、日本インスツルメンツ社) を用いた。

4. ICP-MSによる元素分析

多元素分析は、分析用試料0.50 gを石英製分解容器に量りとり、硝酸5 mL及び過酸化水素水2 mLを加えた。水5 mL及び過酸化水素水2 mLを加えたTFM製分解容器に前述の石英製分解容器を入れ、マイクロ波分解装置により分解した。マイクロ波分解は次の条件で行った。70°C: 2 分間→50°C: 3 分間→8.3°C/分: 18 分間→200°C: 10 分間。分解容器を開封し希釈する操作はHEPAフィルター搭載のクリーンブース [集塵効率 (0.3 μm 粒子): 99.97%以上] 内で行った。

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。

ただし、14群の試料に対しては、試料40 mLに対し硝酸5 mL、過酸化水素2 mLを添加し、50 mLに定容したものをICP-MS用の分析試料とした。ICP-MSの装置条件はTable 2に示すとおりである。なお、ICP-MS測定に係る非金属性の容器・器具は約3 mol/Lの硝酸に3日以上浸漬させた後、超

純水でよく濯ぎ、HEPA フィルター搭載のクリーンブース [集塵効率 (0.3 μm 粒子): 99.97%以上] 内で乾燥させたものを用いた。

5. ヒ素の化学形態別分析

試料 2.0 g を量り取り、0.3 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 5.0 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 pH 2.7 (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たものを、測定溶液とした。

測定試料 10 μL を HPLC カラムに注入し、Table 3 に示した条件にてヒ素の化学種別分析を行った。定量対象とした As 化学種は、無機ヒ素 [iAs: As(III)と As(V)の合計]、MMAs、DMAs、及び AsB とした。得られた As 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。内部標準として移動相に添加した Te の信号を解析し、Te の信号強度の変動が認められた場合には、As/Te 比を用いて同様に定量を行った。全てのヒ素化学種濃度はヒ素としての濃度で示した。

6. 総水銀の分析

総水銀 (Hg) は総水銀計を用いて Table 4 の条件で測定を行った。標準溶液及び水銀濃度が 0.01 mg/kg 未満の試料の測定には低濃度用の吸光セル、水銀濃度が 0.01 mg/kg 以上の試料の測定には高濃度用の吸光セルを用いた。

サンプルボートは、5 mol/L 硝酸溶液に 12 時間以上浸け置きした後、水でよくすすぎ、使用する直前に 750℃で 3 時間加熱した。冷却後、総水銀計により 850℃で 4 分間再加熱したものを使用した。添加剤 B は使用する直前に 750℃で 5 時間加熱したものを、4 群の T-Hg 測定の際に添加した。標準原液を適宜量りとり、100 mg/L L-システイン溶液で希釈し、検量線用標準溶液とした。100 mg/L L-システイン溶液は、L-システイン 100 mg を量り採り、超純水 800 mL 及び硝酸 2 mL を加え溶解後、超純水で 1000 mL に定容して調製した。

7. メチル水銀の分析

試料 2.0 g を量り取り、10% (v/v) TMAH 溶液 5 mL を加え、80°C で 2 時間加熱した。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、上澄みを 20 mL メスフラスコに移した。残渣に超純水 5.0 mL を加え手で良く振とうした後、遠心分離で得た上澄みを上記のメスフラスコに合わせた。この操作を計 2 回行った。塩酸を用いて pH 2.3 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たものを、測定溶液とした。

1 群の場合には、試料 2.0 g に対して人口唾液 (1.667 mg/mL NaCl、0.5 mg/mL NaSCN、1.833 mg/mL Na_2SO_4、0.5 mg/ml $NaHCO_3$、1.5 mg/mL KCl、2.0 mg/mL KH_2PO_4、$CaCl_2 \cdot H_2O$、0.833 mg/mL α-アミラーゼ、0.333 mg/mL 尿酸、0.033 mg/mL 尿素、2.5 mg/mL ムチン) を 3 mL 添加し、37°C で 15 分静置した後、25% (v/v) TMAH を 2 mL 添加し 80°C で 2 時間静置した。以

降の操作は、上記と同様に行った。測定溶液は Table 5 に示した装置条件で分析し、水銀としての濃度で示した。

8. 体重当たり喫食量の解析

体重当たり喫食量の解析には 2017 年から 2019 年に行われた国民健康・栄養調査のデータを用いた。喫食量のデータがあった国民健康・栄養調査のデータ19,753 件のうち、体重のデータと紐づけられたものは 15,809 件であり、喫食量の算出方法が摂取量推定に与える影響の解析に用いた。さらに、15,809 件の内、1 – 6 歳のデータ 801 件は、確率論的摂取量推定に用いた。

国民健康・栄養調査の標本が、国民全体の年齢構成及び人口分布とどれほど一致しているのか検討するために、e-Stat (https://www.e-stat.go.jp) で公開されている人口推計の「第9表 都道府県 年齢（5歳階級）、男女別人口（各年 10 月 1 日現在）」の総人口 (補間補正人口) について、2017 年から 2019 年の平均値を算出し比較した。なお、集計及び解析は独自に行ったものであり、公表数と一致しない場合がある。

9. 統計解析

空試験を3回以上行い、空試験の信号強度の標準偏差を 10 倍した値を検量線の傾きで除した値を定量下限値 (LOQ) とした。HPLC-ICP-MS 分析においては、検量線最下点のピーク範囲における空試験の信号を積分した値を利用し、信号強度が低い場合にはポアソン分布に近似していると仮定して、ピーク面積値 (単位: カウント) の 2 乗根を標準偏差として LOQ を算出した。

LOQ 未満の結果を含むデータの取扱いに関しては、LB 法 (LOQ 未満となったデータに 0 を代入する) と MB 法 (LOQ 未満となったデータに LOQ の半値を代入する) の両方で算出することを基本とした。

元素類の摂取量は、食品群毎に TD 試料中元素濃度に食品喫食量を乗じたものの総和として推定した。この推定値は地域別の全年齢層平均摂取量 (地域別摂取量) に相当する。地域別摂取量を平均した値を全国・全年齢層平均摂取量 (推定一日摂取量) とした。各種元素類摂取量推定値や摂取量に寄与する食品群の変動を明らかにし、原因等について考察した。

確率論的摂取量推定として、幼児 (1 – 6 歳) を対象とした鉛の摂取量分布を推定した。濃度データには 2022 – 2024 年に行った本研究班の成果を、体重当たり喫食量には 2017 年から 2019 年に行われた国民健康・栄養調査のデータの内 1 – 6 歳の 801 件を用いた。確率的プログラミング言語 Stan を用いてベイズ推定を行うことで、確率密度分布のパラメーター推定を行った。食品中の化学物質濃度は正の実数であると考えられるため、対数正規分布・ガンマ分布・ワイブル分布を仮定した統計モデルを検討した。一方で、体重当たりの喫食量は非負値の実数であると考えられる。また、国民健康栄養調査のデータを解析したところ、全ての食品群において 0 を含むデータが確認された。以上のことから、非負値の確率密度分布として、Tweedie 分布、ゼロ過剰対数正規 (ZILN) 分布及びゼロ過剰ガンマ (ZIG) 分布を検討した。

不検出例を含むデータの場合には、不検出例に確率密度関数 $f(Y|\theta)$ に代わって下限値 (LB) – 上限値 (UB) 間の累積

分布関数 $F(\mathrm{LB},\mathrm{UB}|\theta)$ を用いることで、尤度関数を以下のように表すことができる。

$$L(Y|\theta)=\prod_{i=1}^{N_{\mathrm{obs}}} f(Y_i|\theta)\times\prod_{j=1}^{N_{\mathrm{cen}}} F\left(\mathrm{LB}_j,\mathrm{UB}_j\middle|\theta\right)$$

ここで、N_{obs}は定量できたサンプルサイズを、N_{cen}は定量下限値未満のサンプルサイズを示す。

BE 法で得られる事後分布 $f_{\mathrm{post}}(\theta|Y)$ は、ベイズの定理を用いて以下のように表すことができる。

$$f_{\mathrm{post}}(\theta|Y)=\frac{L(Y|\theta)f_{\mathrm{pri}}(\theta)}{f_{\mathrm{obs}}(Y)},$$

ここで、$f_{\mathrm{pri}}(\theta)$は事前分布を、$f_{\mathrm{obs}}(Y)$ は観測値 Y の確率密度分布を示す。観測値 Y は観測後には変化しないため、定数とみなせるので、

$$f_{\mathrm{post}}(\theta|Y)\propto L(Y|\theta)f_{\mathrm{pri}}(\theta)$$

と簡略化することができる。つまり、ベイズ推定は尤度を事前知識に基づいて重み付けしたものであると解釈できる。

喫食量に関するベイズ推定においては、サンプルサイズが充分なため、無情報事前分布として $U(-\infty,\infty)$ の一様分布を用いた。濃度のベイズ推定においては、理論平均値と理論標準偏差の事前分布には、鈴木ら (DOI: 10.3358/shokueishi.64.1) が報告した各食品群におけるPb濃度の理論平均値と理論標準偏差の事後分布の平均値 $(\hat{\mu}_{\mathrm{rep}})$ と標準偏差 $(\hat{\sigma}_{\mathrm{rep}})$ を、以下の確率密度関数であらわされるコーシー分布のパラメーター $[(y_0,\gamma)=(\hat{\mu}_{\mathrm{rep}},\hat{\sigma}_{\mathrm{rep}})]$ に用いた。

$$f(Y|y_0,\gamma)=\frac{1}{\pi}\frac{\gamma}{(Y-y_0)^2+\gamma^2}$$

さらに、モデル選択における不確実性を考慮するため、Bayesian model averaging (BMA) を導入した。BMA の方法はいくつかあり、周辺尤度を基に算出する方法が理論的に最も正確であるが、計算コストが高くモンテカルロシミュレーション (MCS) に適用することを考えると実用的ではない。一方で、広く使えるベイズ情報量基準 (WBIC) は、パラメーター推定とは別に温度=log(*N*)での事後分布を計算する必要があるものの、周辺尤度の近似として有効であることが知られている。そこで、本研究では、WBIC を用いて、モデル k の重み付け係数 w_k を次のように算出した。

$$w_k=\frac{\exp(-\mathrm{WBIC}_k)}{\sum_i \exp(-\mathrm{WBIC}_i)}$$

ここで、WBIC_k はモデル k の WBIC を示し、温度=log(*N*) でベイズ推定を行って得られた対数事後尤度の平均値に−1 を乗じて算出した。

算出した w_k に従って、仮定した 3 つの分布から確率的に分布を選択し、最終的にベイズ推定により事後分布として 2000 個のパラメーターセットを得た。その後、得られたパラメーターセット毎に 100 個の乱数を生成することで、計 20 万個の乱数を得た。

以上の解析は、R (4.4.2) と R のパッケージ cmdstanr (ver. 0.8.1.9000) を用いた。

C. 結果及び考察

1. 各元素類の全国・全年齢層平均摂取量の推定

2024 年に調製した全 14 群の TD 試料の分析を通じ、各元素類の摂取量を推定した。一斉分析法の対象となる 42 元素 (B、Al、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、

Ge、As、Se、Rb、Sr、Zr、Mo、Cd、Sn、Sb、Cs、Ba、La、Ce、Pr、Nd、Sm、Eu、Gd、Tb、Dy、Ho、Er、Tm、Yb、Lu、W、Hg、Tl、Pb、U) について 10 地域の平均値として算出した推定一日摂取量を Table 6 に示す。また、ヒ素の化学種別の推定一日摂取量の平均値は Table 7 に示す。Table 8 には、1 群、10 群、及び 11 群の Me-Hg 摂取量、Me-Hg 割合を示す。また、全元素の摂取量分布を Fig. 1 に示す。

Fig. 1 より、V、Cr、Ge、Sn、希土類元素、Pb 以外の元素では地域ブロック間の変動は小さかった。Ge と希土類元素は定量値が低かったことから、測定精度を踏まえると妥当な変動幅であるといえた。

これまでの調査においては、Al、Sn、Sb、Pb、U の摂取量に地域間の変動が大きいことが報告されている。とくに Sn については、缶詰食品の利用やタケノコが含まれているかで摂取量が大きく変動していた。

2. 食品群ごとの寄与率

各元素及びヒ素化学種の食品群ごとの平均寄与率を Fig. 2 及び Fig. 3 に示す。ここでは、ND となった測定結果には便宜的に LOQ の半値を代入して算出した。多くの元素において、これまでの調査と同様の傾向を示した。毒性の高い、As、Cd、Hg、Pb についてその傾向を以下にまとめた。

As の摂取量における寄与率は、これまでの報告と同様に、10 群で 56.8%、次いで 8 群で 32.2%と大きかった。10 群の魚介類においては、ヒ素は毒性の低い AsB として存在していた (Table 7)。8 群では、AsB よりも遅い保持時間に大きな As の信号が検出され、アルセノシュガーであると考えられた。

一方で、コメや海藻の中でもヒジキには iAs が多く含まれており、そのリスクが懸念されている。2024 年の調査においても、1 群の寄与率は 68.2%、8 群の寄与率は 8.78%であった。

Cd の摂取量における寄与率は、これまでの報告と同様に、1 群で 34.2%、次いで 8 群の 16.5%と大きかった。

Hg の摂取量における寄与率は、これまでの報告と同様に、10 群の魚介類で多く 90.0%であった。10 群では 74.4%が毒性の高いメチル水銀として存在していた (Table 8)。

Pb の摂取量における寄与率は、9 群で最も高く 22.5%、次いで 8 群で 18.2%であり、As・Cd・Hg と比較すると特定の食品群からの寄与率が低かった。9 群では ND となった試料も多かったが、喫食量が大きいためこのような結果になったと考えられた。また、8 群及び 9 群の寄与率の標準偏差はそれぞれ 7.81 及び 6.32 であり、寄与率の変動が大きく、寄与率の高い食品群を特定することは困難であると判断された。

2024 年度の調査から追加した元素である Tl は 8 群の寄与率が 40.1%と最も高かく、次いで 7 群で 18.0%であった。

3. Health-based guidance value との比較

各元素の Health-based guidance value (HBGV) を種々の公的機関のデータベースから参照し、推定した一日摂取量と比較からハザード比 (HQ) を算出した (Table 9)。

HQ が最も高かったのは iAs であり、1.28 – 1.80 であった。ここで、iAs の HGBV に

ついては、アメリカ合衆国環境保護庁 (US EPA) が 1999 年に評価した経口ばく露による心臓血管、皮膚障害の RfD と、EFSA が 2005 年に評価した暫定耐用週間摂取量 (TWI) と比較した。一方で、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) は $BMDL_{0.5}$ として 3.0 μg/kg/day を導出した。BMDL との比較はばく露マージン (MOE) として評価したところ、MOE は 7.8 となった。不確実係数としては、個人差として 10、摂取量推定の不確実性として 4 を用いたところ、推定した MOE は不確実係数積 (UFs) よりも小さい値となった。EPA が導出した皮膚がんに対する Oral slope factor (1.5 per mg/kg-day) を用いて、日本人の推定過剰発がんリスクを求めたところ 5.8×10^{-4} であった。この値は過剰発がんリスクの実質安全量である 10^{-5} と比較すると 58 倍高い値であった。国立がん研究センターが公開しているがん統計 (https://ganjoho.jp/reg_stat/index.html) によると、年間の皮膚がんの罹患率は 18.9/10 万、死亡率は 1.5/10 万と報告されている。寿命を 80 年とすると、iAs 摂取による過剰発がんリスクは $0.72 \times 10^{-5}\,\mathrm{year}^{-1}$ と推定され、皮膚がんの罹患率の 3.8%が iAs 摂取による影響と試算された。現在のところ、食品安全委員会では HBGV を設定するためには、国内のばく露実態及び食事由来のヒ素摂取量を明らかにした上で摂取量を評価する必要があるとしている。また、ヒ素の毒性を修飾する因子として、代謝酵素活性や栄養状態の影響なども示唆されている。以上の点からも、iAs の食事性ばく露による健康リスクが高い可能性があるものの正確な評価については、iAs 摂取量だけでなく栄養状態と代謝酵素に係る遺伝的変異を踏まえた疫学調査が必要と考えられる。

2 番目に HQ が最も高かったのは Ni であり、その値は 0.14 – 1.00 であった。EPA が 1991 年に導出した RfD は、食品安全委員会が 2012 年に導出した TDI や EFSA が 2015 年に導出した TDI よりも 5 倍以上高い値となっており、このような HQ が広い結果となった。

3 番目に HQ が最も高かったのは Mo であり、その値は 0.80 であった。US EPA が 1992 年に導出した RfD (5.0 μg/kg/day) は、尿酸値の上昇をエンドポイントとして横断的疫学研究から導出された値である。疫学調査の対象となった地域は、土壌と植物の Mo 含有量が高く、Cu の含有量が低いことという理由から選択された。Mo と Cu は拮抗作用があることが報告されており、日本人の平均的な Cu 摂取量からすると、安全側のリスク評価となっている可能性が示唆された。

毒性の高い元素である Cd 及び Me-Hg の HQ はそれぞれ、0.24 – 0.68 及び 0.24 – 0.36 の範囲であり、今後とも食品を介した摂取量の変動に注視する必要があると考えられた。

一方で、Pb に関しては、BMDL と比較するため、MOE による検討を行った。ただし、本研究で推定した摂取量は成人も含めたものであるため、幼児に特有の影響である発達神経毒性についての解析は、摂取カロリーを基に 0.688 倍 (1 – 6 歳: 1047 kcal、1 歳以上: 1522 kcal) し、1 – 6 歳の摂取量を推定して算出した。その結果、MOE は 2.8 – 20.8 の範囲内であった。

EFSA の評価書では、鉛摂取の MOE が 1 でも健康リスクはほとんどないと考えられていることから、平均的な摂取量としての健康リスクは小さいと考えられた。

今年度から追加した Tl に関しては、US EPA により導出された HBGV は candidate RfD であったことから、MOE による検討を行った。POD として、毛包萎縮の NOAEL (40 μg/kg/day) および臨床所見の $BMDL_{10}$ (10 μg/kg/day) を用いたところ、MOE は 341 – 1363 と推定された。UFs は 3000 とされたことから、MOE は UFs よりも小さく、健康リスクが懸念された。ただし、UFs が大きいことを考慮する必要がある。

4. 微量ミネラルの摂取量

本研究で測定している一部の元素は、必須な微量ミネラルでもある。そこで、日本人の食事摂取基準 (2020 年版) との比較を行った (Table 10)。比較を行った元素の推定摂取量は、推定平均必要量あるいは推奨量を超えており、耐用上限値未満であった。この結果は、平均的には無機栄養は過不足なく摂取されていると考えられた。しかしながら、推定摂取量と推定平均必要量と近いあるいは推奨量に満たない元素として Fe、Mn 及び Zn が挙げられた。これらの元素については、寄与率の大きい食品群の喫食量が少ない場合は推奨量に満たない可能性がある。性別ごとの摂取量や摂取量分布の評価が今後必要だと考えられた。

5. 経年変動

1977 年より継続的に行ってきた As、Cd、Hg、Pb の推定一日摂取量の経年変動を Fig. 4 に示す。2018 年以前の調査結果は、厚生労働科学研究費補助事業の研究報告書より引用した。

2013 年以前の調査では ND となったデータに 0 と 1/2LOQ (あるいは 1/2LOD)を代入した平均値が報告されていた。一方で、2013－2018 年の報告では ND となったデータには 0 を代入した値のみが報告されている。そのため、経年変動の解析においては、ND=0 を代入した値を用いた。ここでは、トレンドに関して変化点も踏まえて解析するために、prophet (ver. 1.0) パッケージを用いた解析を行った。なお、摂取量は正の実数であると考えられるため、対数変換した値を解析に用いた。

As の推定一日摂取量は、調査開始以降減少傾向にあったが、2007 年以降増加傾向に転じていた。国民健康・栄養調査のデータベースと比較すると As の寄与率が高い 10 群の喫食量は減少していて、8 群に含まれる海藻類の喫食量はほぼ一定の量を示している。これらのことから、食品中の As 濃度が増加している可能性がある。摂取量だけでなく、食品中濃度及び変動を与える要因について注視する必要があるだろう。

毒性の高い iAs については、2014 年からのデータしか無く中長期での変動傾向を判断するのは難しいが、2014 年度以降における変動をふまえてその傾向を判断すると、ほぼ一定の摂取量で推移しているといえた (Fig. 5)。時系列解析を行うだけの十分なデータ数を揃えるためにも、継続的な調査が必要だろう。

Cd は 1977 年の調査開始以来摂取量は減少してきており、2013 年以降は摂取量

のばらつきが小さくなってきた。1977 年の摂取量と比較すると半分以下まで減少していた。コメ中 Cd の基準値は、1970 年以降 1.0 mg/kg 未満とされていた。また、その当時は Cd 濃度 0.4 mg/kg を超えるコメが生産される地域は、何らかの Cd による環境汚染があると考えられていた。このような背景を受け、2010 年 4 月に食品衛生法に基づく Cd の規格基準を「玄米及び精米で 0.4 mg/kg 以下」に改正し、2011 年 2 月末日に施行した。2012 年以前は、不規則に摂取量が高くなる年が 5 – 10 年に 1 度の頻度で観測されていたが、施行後の 2012 年以降は摂取量の変動が抑えられている。この結果は、何らかの要因で環境中の Cd 濃度が増加しコメに移行するといった突発的な汚染を、食品衛生法の改正によりコントロールできていることを示唆するものと考えられた。

Hgの推定一日摂取量は1977－1978年を除くと5－12 μg/person/dayの間を推移していたが、時系列解析の結果、少しずつ減少している傾向にあることが示された。2024 年における Hg の推定一日摂取量は 1977－1978 年の半分以下であった。国民健康・栄養調査の結果より、魚介類の喫食量は 1997 年以降年々減少し、2019 年の魚介類の喫食量は 1997 年の 0.65 倍であった。Hg の推定一日摂取量の 2019 年/1997 年比は 0.57 であり、喫食量の変化よりもわずかに減少率が大きかった。これらの結果から、魚介類の喫食量の減少が主な要因であると考えられたものの、他の要因もあると考えられた。厚生労働省は 2010 年に妊婦への魚介類の摂取と水銀に関する注意事項及びQ&Aを更新し、特に水銀含有量の高い魚介類を偏って多量に食べることに警鐘を鳴らした。2011 年から 2019 年にかけてまぐろ、かじき類 (4.5 → 3.8 g/day) 及びたい、かれい類 (5.8 → 4.5 g/day) の喫食量が減少しているのに対して、さけ・ますの喫食量は増加 (3.9 → 5.4 g/day) していた。2010 年以降の国民健康・栄養調査の各食品小分類のデータが TD 試料の調製に反映されているのは、2016 年以降の調査であることを踏まえると、各機関におけるリスクコミュニケーションが上手くいって高濃度 Hg を含有する魚種の喫食機会が低減されていることが、喫食量よりも Hg の減少率がわずかに大きいことの要因になった可能性が考えられた。

Pb はこれまで様々な目的で使用されてきて、日本においても 1960 年代までは鉛化合物を添加した有鉛ガソリンを使用していた。また工場等からの排気ガスに鉛が含まれていたことから、大気中の鉛濃度が高い状態であったと報告されている。Pb の推定一日摂取量は 1977 年の調査以降継続して減少傾向にある。Pb の推定一日摂取量における 1977 – 1982 年における急激な減少には 1975 年の有鉛ガソリンの使用禁止が寄与しており、1996 年以降の緩やかな減少は焼却施設に設置されている排ガス除去装置の改善による廃棄物処理施設からの環境への排出量が減少したことが要因であると考えられる。これらの要因により、2024 年の推定一日摂取量は、1977 年の 5%以下まで減少していた。

6. 米由来の無機ヒ素の地域ブロック別・年齢層別摂取量推定

令和 4 年の各都道府県における水陸稲

の収穫量 (主食用) を基に、50 検体分を案分し各都道府県産の精白米試料を購入した。50 検体に含まれなかった都道府県産の精白米試料を 1 試料ずつ追加し、計 63 の精白米試料を収集した。

炊飯は、小栗ら (DOI: 10.1265/jjh.69.177) の方法を参考にし、精白米 180 g をポリプロピレン製ボールに取り、超純水 500 mL を入れて 5 回研いだ後に排水することを 3 回繰り返した。研いだ米は炊飯器に移して、炊飯器の指示に従い炊飯した。その際は、超純水を用いた。炊きあがったためしを、フードプロセッサー (MK-K48P-W, パナソニック) を用いて均質化したものを試料とした。均質化の際に加水は行わなかった。

iAs の簡易分析法として、Huang *et al.* (DOI: 10.1039/c5ay01434d) の報告を参考に R5 年度に開発した簡易分析法 (Fig. 6) を用いてめし中の iAs 濃度の実態評価し、摂取シナリオとしては、米の生産量が消費量を上回っている地域ブロックではその地域ブロックで生産された米を消費し、米の生産量が消費量を下回っている地域ブロックでは不足する分を全国から補って消費すると仮定して、地域ブロック別の摂取量推定を試みた。

都道府県 i における平均濃度 C_i (ng/g) を算出した後、都道府県 i における米生産量 P_i (kg/year) を用いて、地域ブロック j における生産量で重み付けした濃度 ${}^{\mathrm{W}}C_j$ (ng/g) を次のように算出した。

$$ {}^{\mathrm{W}}C_j = \frac{\sum_{i\in j} P_i C_i}{\sum_{i\in j} P_i} $$

全国平均濃度 (C_{all}) は、${}^{\mathrm{W}}C_j$を全国に拡大し生産量で重み付けしたものとして算出し、C_{all} は 38.9 ng/g であった。

都道府県 i における米自給率 S_i は、都道府県 i における米の消費量 (kg/人、R_i) 及び都道府県 i の人口 (人, p_i) を用いて次のように算出した。

$$ S_i = \frac{P_i}{R_i p_i} $$

次に、地域ブロック j における米自給率 S_j を次のように算出した。

$$ S_j = \frac{\sum_{i\in j} S_i p_i}{\sum_{i\in j} p_i} $$

ここで、人口のデータには、2023 年 10 月 1 日における都道府県、男女別人口及び人口性比－総人口、日本人人口を、米生産量には、令和 5 年における水陸稲計・陸稲（全国農業地域別・都道府県別），収穫量（主食用）を、米の消費量には令和 4 年度食料需給表（確定値）を用いた。

以上の結果を用いて算出された S_j の値によって、生産量と自給率で重み付けした地域ブロック j における摂取量推定に用いる濃度 ${}^{\mathrm{E}}C_j$ を次のように算出した。

$$ \begin{cases} \text{if } S_j \geq 1, & {}^{\mathrm{E}}C_j = {}^{\mathrm{W}}C_j \\ \text{if } S_j < 1, & {}^{\mathrm{E}}C_j = S_j {}^{\mathrm{W}}C_j + (1 - S_j) C_{\mathrm{all}} \end{cases} $$

C_i の最大値と最小値の比は 19.1 と差が大きかったが、収穫量で補正した ${}^{\mathrm{W}}C_j$ の最大値と最小値の比は 2.1 に、地域ブロック別摂取量推定に用いた ${}^{\mathrm{E}}C_j$ の最大値と最小値の比は 2.0 と平準化された。

体重当たりの喫食量は、2017 年から 2019 年に行われた国民健康・栄養調査のデータを用いて、各地域ブロックの喫食量を年代別に算出し、米および米加工品の体重当たり喫食量の平均値を算出した。年代別および地域ブロック別に推定した摂

取量を Fig. 7 に示す。推定摂取量が最も低かったのは地域ブロック 1 における 60–79 歳の 0.13 µg/kg/day であり、最も高かったのは地域ブロック 3 における 1–6 歳の 0.63 µg/kg/day であった。最大と最小の比は年代によって 1.83 (20-59 歳) – 2.14 (7–19 歳) と幅が認められた。

米・米加工品からの iAs 摂取量への寄与は約 70%と推定されている。この寄与率と US EPA が導出した RfD (0.3 µg/kg/day) より、米由来の摂取量が 0.21 µg/kg/day 以下であることが望ましいと考えられる。しかしながら、70%の地域ブロック/年齢群でこの値を超過していた。

7. 幼児を対象とした鉛の確率論的摂取量評価

ここでは、健康リスクの高い幼児を対象として確率論的な摂取量推定を行った。対象とした有害元素は、幼児に特有の健康影響 (発達神経毒性) が認められる Pb とした。

体重当たり喫食量分布の推定結果を Table 11 に示す。全ての食品群において、いずれかの確率密度分布の重み付けが 0.999 より大きい結果となり、実質的に最適な確率密度分布を選択することと同じ結果となった。各食品群の喫食量の確率密度分布は、8 つの食品群で Tweedie 分布が、4 つの食品群で ZIG 分布が、1 つの食品群で ZILN 分布が最も適していると判断できた。これまでの確率論的摂取量推定において、喫食量分布がゼロ過剰となる確率密度分布はほとんど利用されてこなかったが、生成した乱数のヒストグラムは国民健康・栄養調査のデータとよく似た形状を示していた。この結果は、喫食量に関する確率密度分布が適切に推定できたことを示している。

各食品群の Pb 濃度分布の推定結果を Table 12 に示す。いくつかの食品群において、いずれかの確率密度分布の重み付けが 0.999 より大きい結果となったが、1 群、4 群、9 群では 2 つ以上の確率密度分布で重み付け係数が 0.01 よりも大きくなった。体重当たり喫食量と異なり、サンプルサイズや不検出数により、モデル選択においても不確さが大きくなったと推察された。

幼児を対象とした Pb の摂取量分布の推定結果を Table 13 及び Fig. 8A に示す。一日推定摂取量の平均値は 0.181 ± 0.044 µg/kg/day と推定された。2024 年の TD 研究における、ND に 0 あるいは LOQ を代入し、摂取カロリーで補正した推定摂取量は、0.149 及び 0.214 µg/kg/day であり、2D-MCS で推定した平均値はこれらの範囲内であった。2D-MCS を用いて推定した Pb 摂取量の 5、25、50、75、及び 95 パーセンタイル値は、それぞれ 0.076、0.115、0.154、0.209、0.346 µg/kg/day であった。

2D-MCS を用いて推定された MOE の平均値は 2.71 ± 0.34 であった (Fig. 8 B)。2024 年の TD 研究において、ND に 0 あるいは LOQ を代入し、摂取カロリーで補正して推定した MOE は、3.3 及び 2.3 であり、2D-MCS による推定した平均値はこれらの範囲内であった。また、2D-MCS を用いて推定した平均 MOE の 5 及び 95 パーセンタイル値は、それぞれ 2.18、及び 3.20 であった。また、平均 MOE が UFs である 1 を下回る確率は 0.3%と推定された。

寄与率の平均値が最も高かったのは 8

群 (19.9 ± 3.4%) であり、ついで 9 群 (12.6 ± 3.2%) の順であった。

8. 喫食量及び摂取量の算出方法が摂取量推定に与える影響

本研究では、「7. 幼児を対象とした鉛の確率論的摂取評価」を除いて、地域別の摂取量をμg/person/day の単位で算出した後に平均値を算出し、平均体重で除した値をHBGV 等と比較を行った。この計算方法の代わりに、体重当たり喫食量を用いる方法もある。一般的に、体重当たりの喫食量は低年齢層で大きな値となるため、平均体重で除した場合は低年齢層においては過小評価となる可能性がある。

全国民の平均的な摂取量を求めるという目的からすると、国民健康・栄養調査の標本の年齢・地域構成が、国民の年齢・地域構成と齟齬が無ければ、年齢層や地域によって体重当たりの喫食量が異なる点は問題とならない。しかしながら、人口推計の結果と国民健康・栄養調査の標本を比較したところ、国民健康・栄養調査の標本は、20 – 34 歳の割合が少なく、65 – 79 歳の割合が多いことが昨年度の検討により、明らかとなった。また、40 代に対する 1 – 14 歳の割合が 0.94 と人口推計の値 (0.82) よりも多かった。また、人口推計と比較すると、国民健康・栄養調査の標本は、神奈川県、埼玉県、愛知県、岐阜県、大阪府、兵庫県の比重が大きかった。そのため、上記の都道府県が含まれる、関東I、東海、近畿I の地域ブロックで摂取量が大きかった場合には、全国の平均値としては過大評価となる可能性がある。

以上、国民健康・栄養調査の標本が必ずしも年齢構成と人口分布を反映しているとは言えない点を踏まえると、全国民を対象とした平均的な摂取量を精緻に推定するには、年齢構成や地域ブロック別人口による重み付けを行う必要があると考えられた。そこで、体重当たり喫食量 r (g/kg/day) について、算出方法の違いの影響を検討するために、以下の 2 種類の重み付け法について検討した。なお、ここでは地域ブロック別に算出した。

1 つ目の重み付けの方法として、年齢構成による重み付けをした、地域ブロック j における食品群 i の体重当たり喫食量 ${}^{w1}R_{i,j}$ を次のように算出した (重み付け法 a)。

$$ {}^{w1}R_{i,j} = \sum_{k=1}^{K} w_{j,k} r_{i,j,k}, $$

ここで、$w_{j,k}$は地域ブロック j における年齢層 k の重み付け係数を、$r_{i,j,k}$ は地域 j における年齢層 k の食品群 i の体重当たり食品消費量 (g/kg/day) を示す。なお、都道府県別の人口推計は 5 歳階級毎の値が提供されているのみである。そこで、2017 – 2019 年における人口推計の平均値を用い、各階級の値を 5 等分し各年齢の人口推計として算出し、$w_{j,k}$ を算出した (Table 14)。

2 つ目の重み付け法として、多くの HBGV が「毎日一生涯にわたって摂取しても健康に悪影響がないと判断される量」であることを考慮して、各年齢層でのばく露期間を考慮した体重当たり喫食量 ${}^{w2}R_{i,j}$ を次のように算出した (重み付け法 b)。

$$ {}^{w2}R_{i,j} = \frac{\sum_{k=1}^{K} d_k r_{i,j,k}}{D}, $$

ここで、D は生涯のばく露期間を示し 1 – 80 歳の 79 年とした。d_k は年齢層k におけるばく露期間 (年) を示し、d_1: 6、d_2: 13、d_3: 40、d_4: 20、d_5: 0 とした。この重み付け法では、d_i/D が重み付け係数に相当する。

繰返しになるが、これまで全国平均としての推定摂取量の算出する際には、下記の通り、M地域ブロックの平均値を算出する方法が用いられてきた (方法 1)。

$$^{\mathrm{M1}}E_{\mathrm{all}} = \frac{1}{M}\sum_{j=1}^{M} E_j,$$

この方法は、地域ブロックの人口を考慮していない点が問題となる可能性がある。そこで、以下で示した式のように、各地域ブロックの摂取量を人口で重み付けする方法が考えられる (方法 2)。

$$^{\mathrm{M2}}E_{\mathrm{all}} = \sum_{j=1}^{M} W_j E_j,$$

ここで、W_j は地域ブロック j における人口による重み付け係数を示し、各地域ブロックで次の値を用いた; A: 0.052, B: 0.052, C: 0.219, D: 0.145, E: 0.149, F: 0.037, G: 0.168, H: 0.037, I: 0.084, J: 0.059。

ただし、この算出方法では、人口が多い地域ブロックで偶発的に摂取量が高く推定された場合に、その影響が全国平均に強く反映される可能性がある。そこで、このような影響を軽減するために、体重当たり喫食量及び化学物質濃度の全国平均値を用いる方法も考えられる (方法 3)。

$$^{\mathrm{M3}}E_{\mathrm{all}} = \sum_{i=1}^{N} \overline{R_i}\,\overline{C_i},$$

ここで、$\overline{R_i}$ は食品群 i の全国平均としての消費量 (g/kg) を、$\overline{C_i}$ は食品群 i の全国平均としての濃度 (μg/g) を示し、それぞれ次のように算出した。

$$\overline{R_i} = \sum_{j=1}^{M} W_j R_{i,j}\,,\ \overline{C_i} = \frac{1}{M}\sum_{j=1}^{M} C_{i,j}$$

ここで、$R_{i,j}$ には $^{\mathrm{w1}}R_{i,j}$ または $^{\mathrm{w2}}R_{i,j}$ を用いた。

$^{\mathrm{M3}}E_{\mathrm{all}}$と同様に、$^{\mathrm{M1}}E_{\mathrm{all}}$ 及び $^{\mathrm{M2}}E_{\mathrm{all}}$ についても、体重当たり喫食量に$^{\mathrm{w1}}R_{i,j}$ または $^{\mathrm{w2}}R_{i,j}$ を用いた摂取量を算出した。したがって、重み付けのない推定摂取量 ($^{\mathrm{w0}}E_{\mathrm{all}}$) を合わせて、計 7 通りの算出方法を比較した。

2024 年に実施した TD 試料を用いた iAs, Cd, Hg, 及び Pb の推定摂取量について、算出方法による違いを比較した結果を Fig. 9 に示す。喫食量に関する重み付け法において、$^{\mathrm{w0}}E_{\mathrm{all}}$に対する比を比較したところ、重み付け法 b (0.94 – 1.29) よりも、重み付け法 a (1.01 – 1.09) を用いた方が、$^{\mathrm{w0}}E_{\mathrm{all}}$ と近い推定値となる傾向があった。重み付け法 a では、年齢層別の人口推計の値が必要となり、国民健康・栄養調査の集計を行う度に算出し直す必要がある。また、公開されている 5 歳階級での年齢別人口推計データを用いる際に、1 歳階級での補正人口をどのように算出するかという問題が生じる。重み付け法 b は、重み付け法 a のような問題は生じないが、生涯ばく露期間の設定について議論が必要であろう。重み付け法 a と b では、摂取量評価の目的が異なるため、本研究班における摂取量評価の目的について整理する必要があると考えられた。

摂取量の全国平均値に関する計算方

法として、${}^{w0}E_{all}$に対する比を比較したところ、方法 3 (1.01 – 1.11)、方法 2 (0.95 – 1.27)、方法 1 (0.94 – 1.29) の順に${}^{w0}E_{all}$と近い推定値となる傾向にあった。方法 1 と喫食量の重み付けを併用する方法は、喫食量に対してのみ人口構成の問題を考慮し、摂取量の代表値を算出する際には無視する一貫性を欠いた算出法であり、結論を歪める可能性がある。重み付け法 b と方法 2 を用いた Pb の推定摂取量 (算出法 b2) は、検討した方法の中で最大の推定摂取量を示したことから、人口が多い地域で偶発的に摂取量が高く推定された場合に、その影響が全国平均に強く反映される可能性を否定できない。方法 3 は、全体的にはこれまでの算出法である重み付けなしとの齟齬が小さかったが、重み付け法 b と方法 3 を用いた iAs の推定摂取量 (算出法 b3) は検討した方法の中で最大の推定摂取量を示した。以上の結果から、方法 3 が必ずしもこれまでの推定結果との齟齬が小さくなるとは結論できなかった。

D. 結論

全国 10 地域よりマーケットバスケット方式により TD 試料を調製し、食品を介した元素類の摂取量推定を行った。HBGV と比較したところ、HQ は iAs (1.28 – 1.80)、Ni (0.14 – 1.00)、Mo (0.80)、Cd (0.24 – 0.68)、Mn (0.49)、Me-Hg (0.24 – 0.36)、Ba (0.04 – 0.37)、Al (0.16 – 0.33)、B (0.11 – 0.23) の順で高い値を示した。一方で、Pb の MOE (2.8 – 20.8) は UFs (1) よりも大きく健康リスクは小さいと考えられたものの、幼児への発達神経毒性に関する健康リスクを評価するには確率論的なアプローチを用いた摂取量分布が必要であると考えられた。そこで、幼児 (1 – 6 歳) の体重当たり喫食量のデータを用いて確率論的な摂取量推定を行ったところ、発達神経毒性に対する平均 MOE が UFs である 1 を下回る確率は 0.3%と推定された。

必須元素である微量ミネラルの推定摂取量は、推定平均必要量あるいは推奨量を超えており、耐用上限値未満であった。しかしながら、推定摂取量と推定平均必要量と近いあるいは推奨量に満たない元素として Fe、Mn 及び Zn が挙げられた。これらの元素については、寄与率の大きい食品の喫食量が少ない場合は推奨量に満たない可能性がある。性別ごとの摂取量や摂取量分布の評価が今後必要だと考えられた。

これまでの調査と比較し経年変動を解析したところ、Cd、Hg、Pb は減少傾向にあり、これまでの政策との関連が示唆された。一方で、As については近年上昇傾向に転じていたが、iAs についてはほぼ一定の値を示していた。iAs は対 HBGV 比も高いことから、継続調査の必要性が改めて示された。

地域ブロック別の iAs 摂取量を年代別に推定したところ、最大と最小の比は年代によって 1.82 (20-59 歳) – 2.14 (7–19 歳) と地域ブロックによって摂取量の推定値に差が認められた。

全国の平均摂取量を算出するための方法について比較したところ、現行の方法とは喫食量に 0.94 – 1.29 倍の違いが生じた。喫食量算出における重み付け法 a と b では、摂取量評価の目的が異なるため、本研究班における目的について整理する必

要があると考えられた。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

Tomoaki Tsutsumi, Yoshinari Suzuki: Total diet studies on food contaminants in Japan: current findings with time trends, International Conference on Food Safety and 39th KoSFoS Annual Meeting, (2024.11).

鈴木美成, 張本雅恵, 北山育子, 高橋未来, 堤智昭: トータルダイエット試料を用いた有害元素のばく露量推定, 第 61 回全国衛生科学技術協議会年会 (2024.11).

鈴木美成: レギュラトリーサイエンスと食品安全に貢献する有害元素分析, プラズマ分光分析研究会 第 124 回講演会 (2025.3).

Table 1 2017-2019 年 国民健康・栄養調査 喫食量の地域別集計結果 (平均値、単位: g)

食品群	小分類	北海道	東北	関東I	関東II	北陸	東海	近畿I	近畿II	中国	四国	北九州	南九州
1 群	米	290.9	331.1	281.9	307.8	331.5	301.3	287.6	311.1	307.8	314.9	312.2	316.0
	米加工品	4.2	2.8	4.1	3.7	5.0	4.1	4.3	4.3	3.7	4.1	3.9	3.4
2 群	小麦粉類	3.3	2.8	3.6	3.8	2.9	3.6	4.9	3.6	4.2	5.2	4.2	4.0
	パン類(菓子パンを除く)	34.7	21.4	36.5	30.0	29.2	36.5	43.7	41.5	37.1	34.3	33.1	28.9
	菓子パン類	4.1	5.5	3.9	4.6	4.3	4.1	5.4	6.1	5.0	5.7	6.4	4.9
	うどん、中華めん類	34.8	41.7	36.5	38.5	33.5	32.9	38.9	40.9	39.1	42.5	30.1	26.2
	即席中華めん	6.2	5.6	4.7	4.7	3.4	4.0	4.0	3.2	4.4	4.2	6.8	3.2
	パスタ	11.1	10.1	13.1	8.9	8.1	12.1	8.0	4.8	9.8	8.2	7.8	13.0
	その他の小麦加工品	3.5	5.6	7.0	6.5	4.3	6.0	5.1	5.2	5.5	5.6	5.4	4.1
	そば・加工品	12.6	5.2	8.3	7.5	5.3	4.8	4.6	3.1	3.1	5.3	2.5	3.9
	とうもろこし・加工品	1.1	0.58	1.6	1.2	0.82	1.1	1.0	0.89	1.3	0.89	0.99	0.42
	その他の穀類	3.6	2.2	3.0	3.1	1.7	3.3	3.0	1.9	1.8	2.5	4.0	4.2
	さつまいも・加工品	3.7	6.2	7.1	7.2	7.4	7.6	5.5	5.8	10.0	10.7	8.2	5.7
	じゃがいも・加工品）	28.0	23.0	25.2	21.9	29.1	22.3	25.7	30.3	25.2	25.7	21.0	20.2
	その他のいも・加工品	11.8	22.4	13.4	17.8	27.6	19.8	15.3	17.6	16.9	16.6	16.5	18.5
	でんぷん・加工品	1.6	2.3	2.2	1.7	3.5	2.4	4.2	2.7	2.4	3.1	2.5	2.4
	種実類	2.1	1.9	3.0	2.4	2.1	2.9	2.3	3.1	2.5	2.5	2.0	2.5
3 群	砂糖・甘味料類	6.2	5.3	6.2	6.0	6.0	7.1	6.6	7.0	7.2	7.6	6.6	7.3
	和菓子類	9.3	10.5	11.4	8.7	11.3	11.0	10.3	10.2	11.0	12.2	9.3	9.1
	ケーキ・ペストリー類	6.1	5.4	6.4	4.7	4.5	7.4	7.4	8.8	5.5	6.4	6.1	2.9
	ビスケット類	1.6	1.5	1.8	1.7	2.2	2.0	1.8	1.8	1.8	2.2	1.9	2.0
	キャンデー類	0.25	0.23	0.51	0.31	0.29	0.34	0.55	0.21	0.50	0.51	0.69	0.31
	その他の菓子類	7.4	6.0	8.5	7.3	7.1	7.9	7.2	8.0	6.1	6.7	6.4	5.8
4 郡	バター	1.4	0.67	1.3	0.80	0.77	1.1	1.3	1.2	0.95	0.92	0.79	0.84
	マーガリン	0.68	0.80	1.1	1.1	0.84	1.1	1.3	1.1	1.3	1.3	0.96	0.74
	植物性油脂	8.2	8.2	9.4	9.8	8.8	8.5	8.5	8.3	8.5	8.6	8.6	9.9
	動物性油脂	0.20	0.12	0.22	0.25	0.07	0.21	0.15	0.22	0.12	0.17	0.15	0.12
	その他の油脂）	0.01	0.02	0.02	0.02	0.00	0.03	0.04	0.03	0.02	0.00	0.02	0.02
5 群	大豆(全粒)・加工品	1.3	1.1	1.7	1.5	2.1	2.2	1.5	1.8	1.8	2.1	1.5	2.3
	豆腐	32.4	40.9	33.1	32.5	34.0	32.3	33.5	33.8	32.6	45.1	32.5	42.2
	油揚げ類	4.3	5.8	6.0	6.0	9.8	7.4	8.7	9.2	6.6	8.9	7.5	7.2
	納豆	11.7	13.9	10.4	12.2	9.2	7.3	6.5	6.3	6.6	5.1	8.3	10.7
	その他の大豆加工品	8.6	7.7	9.2	7.9	5.8	8.6	8.7	6.2	6.8	6.5	9.6	8.9
	その他の豆・加工品	0.70	0.60	1.5	1.6	1.6	1.2	1.3	0.94	1.6	2.0	0.95	2.3
6 群	いちご	0.61	0.16	0.21	0.21	0.02	0.15	0.10	0.07	0.15	0.06	0.10	0.12
	柑橘類	17.3	14.1	19.5	17.4	19.2	19.1	19.1	26.9	23.6	33.0	23.8	27.9
	バナナ	16.6	11.7	16.5	13.5	12.2	17.3	18.1	16.1	16.0	14.9	16.2	13.2
	りんご	20.7	31.3	20.0	26.8	16.4	17.2	15.7	12.5	15.5	19.3	11.4	13.8
	その他の生果	35.2	34.7	33.0	35.4	55.6	32.3	31.0	31.5	35.1	32.4	24.8	27.3
	ジャム	1.4	1.1	1.5	1.4	0.92	1.5	1.3	1.8	1.4	1.2	0.81	0.69
	果汁・果汁飲料	8.0	8.3	12.3	10.3	8.0	8.1	9.3	14.2	7.0	9.2	8.5	9.5

Table 1 つづき

食品群	小分類	北海道	東北	関東I	関東II	北陸	東海	近畿I	近畿II	中国	四国	北九州	南九州
7 群	トマト	18.7	12.7	21.4	17.2	15.5	17.4	15.7	14.1	11.5	16.0	14.2	17.3
	にんじん	18.0	20.7	19.9	20.1	22.3	19.4	19.6	18.4	20.7	18.9	18.4	19.7
	ほうれん草)	6.8	13.9	9.0	8.9	9.9	7.8	8.1	9.6	12.2	11.8	8.8	6.5
	ピーマン	5.4	4.0	4.8	4.2	4.3	3.7	3.9	2.6	6.2	3.7	5.2	5.2
	その他の緑黄色野菜	25.8	36.3	32.3	32.4	36.7	28.1	32.5	31.0	35.7	37.8	30.1	36.7
	野菜ジュース	12.1	10.0	16.6	12.0	9.7	12.6	13.6	13.2	12.8	10.4	10.6	11.9
8 群	キャベツ	30.2	31.7	30.7	32.6	31.9	28.5	27.1	25.8	27.8	32.5	28.7	36.4
	きゅうり	8.1	7.0	10.0	9.0	8.7	7.8	7.4	6.4	7.8	9.6	8.6	12.5
	大根	25.0	34.8	24.1	30.8	44.8	26.0	26.2	27.9	27.8	26.0	23.2	26.8
	たまねぎ	35.8	29.4	33.4	31.2	32.1	33.6	35.1	34.8	39.0	34.8	37.3	30.6
	はくさい	18.8	23.7	19.8	20.8	24.2	20.3	23.5	25.4	25.1	30.8	24.3	24.0
	その他の淡色野菜	45.2	51.5	50.5	46.9	53.1	42.5	37.5	33.5	39.4	38.3	41.3	47.3
	葉類漬け物	2.2	3.6	3.0	3.8	2.8	2.3	2.3	3.5	2.7	2.0	2.5	1.8
	たくあん・その他の漬け物	6.1	6.9	7.3	5.9	6.6	5.2	4.1	5.0	4.3	4.4	3.6	4.1
	きのこ類	13.2	19.6	15.2	16.3	16.3	16.1	15.1	14.6	17.1	17.2	16.0	22.0
	海草類	6.8	9.7	10.4	9.8	9.4	9.6	8.4	7.8	9.6	9.5	8.5	9.9
9 群	日本酒	9.5	11.4	7.6	9.5	12.3	7.5	6.2	8.0	9.0	4.7	6.9	3.2
	ビール	63.1	59.6	60.1	54.7	71.6	51.7	75.1	55.7	54.7	50.9	58.8	65.4
	洋酒・その他	33.3	35.3	38.4	37.4	34.2	28.2	29.6	26.2	30.3	27.3	34.5	50.2
	茶	177.8	167.7	254.5	253.8	197.8	300.5	221.8	224.3	211.7	280.0	258.8	306.7
	コーヒー・ココア	140.2	132.7	133.9	134.4	137.9	138.6	150.4	147.6	163.3	146.2	134.3	123.4
	その他の嗜好飲料	102.4	84.5	128.5	123.5	114.2	155.8	181.5	104.9	179.1	136.4	172.2	107.3
10 群	あじ、いわし類	6.8	9.4	7.8	5.5	8.3	8.0	9.0	12.9	9.1	8.5	12.0	12.6
	さけ、ます	6.7	8.7	5.2	4.2	6.3	4.2	4.7	4.7	3.4	3.2	3.8	4.5
	たい、かれい類	5.3	4.1	3.8	2.5	5.8	3.8	5.5	6.2	4.5	5.8	4.7	4.0
	まぐろ、かじき類	3.2	4.3	5.4	4.3	1.4	4.5	2.3	1.9	1.6	3.2	1.5	2.5
	その他の生魚	5.0	6.6	5.0	3.5	9.4	6.6	7.6	7.3	9.0	11.6	7.0	9.3
	貝類	2.9	3.0	3.2	2.1	2.9	2.3	2.2	3.0	1.3	0.60	1.2	1.9
	いか、たこ類	1.8	3.7	2.7	3.6	3.5	2.6	3.1	2.6	3.8	2.5	2.8	2.2
	えび、かに類	1.9	2.9	3.4	2.9	5.3	3.9	4.2	4.5	4.6	3.6	3.2	3.1
	魚介(塩蔵、生干し、乾物)	20.8	18.3	15.8	18.5	13.9	11.1	12.4	15.9	13.2	10.4	10.3	13.3
	魚介(缶詰)	5.1	4.2	3.1	4.4	3.7	3.0	3.0	2.1	2.2	1.9	2.7	5.5
	魚介(佃煮)	0.26	0.27	0.20	0.18	0.08	0.16	0.22	0.22	0.10	0.16	0.12	0.12
	魚介(練り製品)	6.5	8.3	7.0	7.8	12.2	8.9	11.3	9.4	9.5	8.8	7.8	7.6
	魚肉ハム、ソーセージ	1.32	1.09	0.62	0.32	0.77	0.83	0.48	0.15	1.13	0.23	1.03	1.06
11 群	牛肉	9.4	11.6	14.3	9.7	6.7	15.7	21.7	21.5	17.4	21.6	15.2	11.9
	豚肉	45.0	42.4	44.1	44.9	37.8	40.1	38.2	33.9	35.9	30.9	37.5	41.7
	ハム、ソーセージ類	15.3	12.6	13.6	14.2	13.2	14.1	12.5	13.9	11.2	11.7	12.3	13.0
	その他の畜肉	2.66	0.00	0.30	0.34	0.10	0.36	0.36	0.00	0.72	0.21	0.03	0.32
	鶏肉	24.2	23.1	31.0	30.2	30.1	30.5	34.1	38.0	32.9	28.8	37.5	37.8
	その他の鳥肉)	0.03	0.07	0.04	0.00	0.00	0.04	0.16	0.19	0.15	0.11	0.00	0.33

Table 1 つづき

食品群	小分類	北海道	東北	関東I	関東II	北陸	東海	近畿I	近畿II	中国	四国	北九州	南九州
11 群	肉類(内臓)	0.40	1.4	1.3	1.1	1.1	2.4	1.6	0.80	1.2	0.78	2.4	1.8
	鯨肉	0.00	0.16	0.00	0.00	0.02	0.04	0.08	0.13	0.12	0.00	0.06	0.00
	その他の肉･加工品)	0.00	0.07	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	卵類	41.4	39.0	36.3	35.0	38.4	39.9	44.0	41.9	42.3	42.3	40.7	42.6
12 群	牛乳	85.5	73.6	85.8	84.6	74.9	83.6	82.3	81.5	81.5	81.3	78.0	80.2
	チーズ	4.2	2.2	4.8	3.4	3.2	4.0	3.6	3.2	3.0	2.4	3.1	3.2
	発酵乳･乳酸菌飲料	36.2	36.0	41.9	37.2	31.5	41.8	36.2	36.2	37.6	38.3	29.2	34.6
	その他の乳製品	9.0	8.6	8.9	9.4	7.1	8.8	8.2	11.0	7.8	8.4	8.8	7.2
	その他の乳類	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.87	1.28	0.00	0.12
13 群	ソース	1.2	1.5	1.9	1.6	1.7	2.0	2.3	1.5	2.0	2.0	1.8	1.3
	しょうゆ	10.5	10.7	11.3	12.1	12.5	11.8	11.7	13.0	12.9	12.9	12.3	13.6
	塩	1.2	1.2	1.3	1.3	1.3	1.2	1.2	1.2	1.2	1.1	1.1	1.3
	マヨネーズ	3.4	3.8	3.3	3.2	4.4	3.1	3.5	3.5	3.1	2.9	3.2	3.3
	味噌	10.7	13.6	10.0	9.8	11.6	10.2	8.9	8.1	8.7	8.4	9.4	12.2
	その他の調味料	41.9	42.3	45.1	35.5	42.9	41.8	40.5	46.1	42.2	36.0	37.2	40.4
	香辛料･その他	0.35	0.28	0.50	0.58	0.35	0.44	0.36	0.36	0.36	0.26	0.31	0.38

Table 2 ICP-MS の分析条件

項目	設定
RF power	1550 W
冷却ガス流量	14.0 L/min
ネブライザーガス流量	1.065 L/min
補助ガス流量	0.8 L/min
ネブライザー	PFA 同軸型
スプレーチャンバー	サイクロン型
サンプリング深さ	5.00 mm
セルガス流量	He: 4.2 mL/min (Se 以外)、H_2: 4.0 mL/min (Se)
積分時間	0.1 s
掃引数	10 回
繰り返し回数	3 回
内部標準	Be (*m/z*=11 – 27)、Y (*m/z*=47 – 95、ただし、As と Se には Te を内部標準とした)、In (m/z=111 – 175)、Bi (m/z=182 – 238)
測定質量電荷比	^{11}B、^{27}Al、^{47}Ti、^{51}V、^{52}Cr、^{55}Mn、^{57}Fe、^{59}Co、^{60}Ni、^{65}Cu、^{66}Zn、^{73}Ge、^{75}As、^{78}Se、^{85}Rb、^{88}Sr、^{90}Zr、^{95}Mo、^{111}Cd、^{118}Sn、^{121}Sb、^{133}Cs、^{137}Ba、^{139}La、^{140}Ce、^{141}Pr、^{146}Nd、^{147}Sm、^{153}Eu、^{157}Gd、^{159}Tb、^{163}Dy、^{165}Ho、^{166}Er、^{169}Tm、^{172}Yb、^{175}Lu、^{182}W、^{205}Tl、^{208}Pb、^{238}U

Table 3 ヒ素化学種分析の HPLC-ICP-MS 分析条件

項目	設定
HPLC	
カラム	L-column2 (内径 4.6 mm、長さ 25 cm、粒子径 3 μm)
カラム温度	25°C
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、10 ng/g Te (pH 2.7)
グラジエント条件	Isocratic
流速	0.75 mL/min
注入量	10 μL
オートサンプラー温度	4°C
ICP-MS	
RF power	1550 W
冷却ガス流量	14.0 L/min
ネブライザーガス流量	1.12 L/min
補助ガス流量	0.8 L/min
ネブライザー	PFA 同軸型
スプレーチャンバー	サイクロン型
セルガス流量	He: 4.85 mL/min
積分時間	0.05 s
掃引数	1 回
繰り返し回数	1 回
測定質量電荷比	^{75}As、^{125}Te

Table 4 水銀分析計の加熱条件

	加熱モード		
	乾燥	分解 1	分解 2
パージ	-	-	850°C、4 min
標準溶液	150°C、1 min	-	800°C、2 min
TD 試料	150°C、1 min	250°C、10 min	800°C、2 min

Table 5 水銀化学種分析の HPLC-ICP-MS 分析条件

項目	設定
HPLC	
カラム	CAPCELL Pak ADME (内径 4.6 mm、長さ 25 cm、粒子径 3 μm)
カラム温度	25°C
移動相	5% (v/v) メタノール、0.5 g/L L-システイン、1 ng/g Tl (pH 2.3)
グラジエント条件	Isocratic
流速	0.75 mL/min
注入量	10 (10 群)、100 (1 群及び 11 群) μL
オートサンプラー温度	4°C
ICP-MS	
RF power	1550 W
冷却ガス流量	14.0 L/min
ネブライザーガス流量	1.12 L/min
補助ガス流量	0.8 L/min
ネブライザー	PFA 同軸型
スプレーチャンバー	サイクロン型
セルガス流量	He: 4.85 mL/min
積分時間	0.10 s
掃引数	1 回
繰り返し回数	1 回
測定質量電荷比	^{201}Hg、^{205}Tl

Table 6 2023 年に実施したトータルダイエット研究により推定した元素類の一日摂取量の平均値 (μg/person/day)

食品群	B		Al		Ti		V		Cr		Mn	
	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法
1 群	82.3	82.3	23.1	54.0	1.55	5.41	0.56	0.56	6.34	7.48	1082	1082
2 群	68.8	68.8	260	260	7.83	8.73	0.83	0.83	4.03	4.22	517	517
3 群	26.0	26.0	55.3	55.3	3.04	3.04	0.24	0.24	2.37	2.41	83.7	83.7
4 群	0.00	0.42	0.00	1.92	0.02	0.05	0.00	0.00	0.00	0.09	0.06	0.07
5 群	242	242	96.3	96.3	5.40	5.40	0.23	0.23	1.17	1.32	501	501
6 群	184	184	54.2	58.9	1.30	1.40	0.05	0.06	0.81	1.39	203	203
7 群	96.3	96.3	126	127	5.40	5.49	0.27	0.27	1.86	1.99	183	183
8 群	196	196	286	286	6.74	7.14	3.56*	3.56*	5.08	5.54	396	396
9 群	161	161	704	704	3.95	10.8	2.04	2.04	23.5	23.9	468	468
10 群	30.7	30.7	427	427	20.8	20.8	1.50	1.50	2.40	2.43	39.3	39.3
11 群	20.1	20.1	143	144	7.95	7.95	0.13	0.13	2.33	2.55	33.4	33.4
12 群	29.1	29.1	10.0	22.8	3.66	3.87	0.11	0.11	1.04	1.29	4.09	4.09
13 群	75.4	75.4	367	367	7.22	7.22	0.71	0.71	6.55	6.55	289	289
14 群	4.55	4.55	7.05	7.09	0.00	0.04	0.37	0.37	0.02	0.02	0.09	0.09
合計	1217	1217	2560	2613	74.8	87.3	12.0*	12.0*	57.5	61.2	3800	3800

LB 法: 不検出となった値に 0 を代入して算出した。

MB 法: 不検出となった値に LOQ の半値を代入して算出した。

*中央値

Table 6 つづき

食品群	Fe		Co		Ni		Cu		Zn		Ge	
	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法
1 群	207	207	0.69	0.78	34.9	34.9	336	336	2136	2136	0.31	0.31
2 群	1075	1075	1.92	1.92	13.9	13.9	190	190	671	671	0.01	0.08
3 群	271	271	0.54	0.54	5.39	5.45	37.3	37.3	157	157	0.01	0.02
4 群	0.00	1.17	0.00	0.01	0.00	0.17	0.05	0.08	0.00	2.94	0.00	0.00
5 群	1057	1057	1.00	1.00	36.3	36.3	149	149	585	585	0.05	0.05
6 群	154	154	0.34	0.34	3.95	4.38	61.0	61.0	96.3	96.3	0.00	0.03
7 群	373	373	0.65	0.65	5.54	5.54	59.0	59.0	258	258	0.05	0.05
8 群	803	803	1.19	1.19	14.4	14.4	92.8	92.8	480	480	0.15	0.15
9 群	497	529	1.22	1.22	15.2	16.3	35.2	35.2	17.3	95.7	0.00	0.21
10 群	656	656	0.71	0.71	2.06	2.11	81.7	81.7	747	747	0.07	0.07
11 群	1759	1759	0.16	0.20	0.92	1.46	83.7	83.7	3041	3041	0.04	0.04
12 群	53.7	55.9	0.03	0.06	0.36	1.10	8.58	8.58	564	564	0.00	0.05
13 群	650	650	0.89	0.89	17.4	17.4	56.8	56.8	316	316	0.02	0.04
14 群	1.04	1.35	0.00	0.00	0.13	0.14	1.33	1.33	0.64	1.00	0.01	0.01
合計	7558	7593	9.34	9.52	150	154	1193	1194	9070	9152	0.73	1.12

LB 法: 不検出となった値に 0 を代入して算出した。

MB 法: 不検出となった値に LOQ の半値を代入して算出した。

Table 6 つづき

食品群	As		Se		Rb		Sr		Zr		Mo	
	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法
1 群	15.3	15.3	3.86	3.86	184	184	26.2	26.2	0.00	0.10	108	108
2 群	1.15	1.18	13.5	13.5	169	169	124	124	0.37	0.38	13.7	13.7
3 群	0.26	0.26	1.38	1.38	54.0	54.0	26.2	26.2	0.10	0.10	3.43	3.43
4 群	0.00	0.01	0.06	0.06	0.57	0.57	0.22	0.22	0.00	0.01	0.04	0.04
5 群	0.27	0.27	1.98	1.98	118	118	98.2	98.2	0.04	0.06	38.8	38.8
6 群	0.05	0.09	0.07	0.19	132	132	55.6	55.6	0.02	0.07	1.42	1.42
7 群	0.06	0.09	0.11	0.17	153	153	77.4	77.4	0.11	0.12	4.65	4.65
8 群	80.4	80.4	0.66	0.68	242	242	675	675	0.25	0.26	19.8	19.8
9 群	0.19	0.62	0.75	1.25	211	211	67.0	67.0	0.55	0.71	1.45	1.49
10 群	118	118	32.4	32.4	36.6	36.6	279	279	0.21	0.22	0.92	0.92
11 群	0.49	0.49	27.4	27.4	471	471	30.8	30.8	0.49	0.49	5.62	5.62
12 群	0.00	0.10	3.56	3.56	234	234	54.6	54.6	1.74	1.75	4.92	4.92
13 群	2.39	2.39	4.17	4.17	95.3	95.3	128	128	0.23	0.23	16.8	16.8
14 群	0.12	0.12	0.03	0.03	0.68	0.68	12.4	12.4	0.01	0.01	0.10	0.10
合計	218	219	89.9	90.6	2102	2102	1655	1655	4.11	4.50	220	220

LB 法: 不検出となった値に 0 を代入して算出した。

MB 法: 不検出となった値に LOQ の半値を代入して算出した。

Table 6 つづき

食品群	Cd		Sn		Sb		Cs		Ba		La	
	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法
1 群	4.66	4.66	0.15	0.23	0.17	0.22	0.46	0.46	17.9	17.9	0.00	0.01
2 群	2.09	2.09	0.50	0.50	0.11	0.14	0.51	0.51	90.6	90.6	0.20	0.20
3 群	0.39	0.39	0.28	0.28	0.01	0.04	0.16	0.16	13.8	13.8	0.03	0.03
4 群	0.00	0.00	0.03	0.03	0.00	0.01	0.00	0.00	0.15	0.22	0.00	0.00
5 群	0.91	0.91	0.11	0.12	0.00	0.05	0.28	0.28	50.2	50.2	0.08	0.08
6 群	0.06	0.06	199	199	0.06	0.13	0.74	0.74	28.3	28.3	0.12	0.12
7 群	1.02	1.02	3.91	3.92	0.02	0.03	0.28	0.28	43.0	43.0	0.18	0.18
8 群	2.13	2.13	133	133	0.07	0.09	0.59	0.59	67.3	67.3	0.73	0.73
9 群	0.09	0.10	0.46	0.56	0.13	0.20	1.00	1.00	19.6	20.0	0.10	0.11
10 群	1.45	1.45	0.44	0.44	0.10	0.10	0.86	0.86	8.22	8.22	0.20	0.20
11 群	0.06	0.06	0.94	0.97	0.04	0.05	1.57	1.57	13.8	13.8	0.02	0.02
12 群	0.00	0.01	0.00	0.04	0.06	0.08	0.79	0.79	11.5	11.5	0.02	0.02
13 群	0.54	0.54	0.26	0.26	0.07	0.07	0.27	0.27	43.7	43.7	0.09	0.09
14 群	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	0.31	0.31	1.95	1.95	0.00	0.00
合計	13.4	13.4	339	339	0.86	1.23	7.83	7.83	410	410	1.76	1.77

LB 法: 不検出となった値に 0 を代入して算出した。

MB 法: 不検出となった値に LOQ の半値を代入して算出した。

Table 6 つづき

食品群	Ce		Pr		Nd		Sm		Eu		Gd	
	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法
1 群	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.000	0.001	0.00	0.00
2 群	0.20	0.20	0.03	0.03	0.12	0.12	0.03	0.03	0.009	0.009	0.03	0.03
3 群	0.05	0.05	0.01	0.01	0.02	0.02	0.00	0.00	0.001	0.001	0.00	0.00
4 群	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00
5 群	0.09	0.09	0.01	0.01	0.06	0.06	0.01	0.01	0.005	0.005	0.02	0.02
6 群	0.04	0.04	0.01	0.01	0.04	0.04	0.01	0.01	0.002	0.002	0.01	0.01
7 群	0.08	0.09	0.02	0.02	0.08	0.08	0.01	0.01	0.006	0.006	0.02	0.02
8 群	0.60	0.61	0.10	0.10	0.40	0.40	0.10	0.10	0.028	0.028	0.13	0.13
9 群	0.15	0.16	0.02	0.02	0.07	0.08	0.01	0.02	0.004	0.004	0.02	0.02
10 群	0.22	0.22	0.04	0.04	0.15	0.15	0.03	0.03	0.008	0.008	0.04	0.04
11 群	0.00	0.05	0.00	0.00	0.01	0.02	0.00	0.00	0.001	0.001	0.00	0.00
12 群	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.001	0.001	0.00	0.00
13 群	0.18	0.18	0.02	0.02	0.08	0.08	0.02	0.02	0.005	0.005	0.01	0.01
14 群	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00
合計	1.63	1.85	0.27	0.27	1.05	1.10	0.23	0.24	0.071	0.072	0.28	0.28

LB 法: 不検出となった値に 0 を代入して算出した。

MB 法: 不検出となった値に LOQ の半値を代入して算出した。

Table 6 つづき

食品群	Tb		Dy		Ho		Er		Tm		Yb	
	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法
1 群	0.000	0.000	0.00	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00
2 群	0.005	0.005	0.03	0.03	0.006	0.006	0.02	0.02	0.002	0.002	0.01	0.01
3 群	0.001	0.001	0.00	0.00	0.001	0.001	0.00	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00
4 群	0.000	0.000	0.00	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00
5 群	0.002	0.002	0.02	0.02	0.004	0.004	0.01	0.01	0.001	0.001	0.01	0.01
6 群	0.001	0.001	0.00	0.00	0.001	0.001	0.00	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00
7 群	0.002	0.002	0.01	0.01	0.002	0.002	0.01	0.01	0.001	0.001	0.00	0.00
8 群	0.021	0.021	0.12	0.12	0.024	0.024	0.07	0.07	0.008	0.008	0.05	0.05
9 群	0.003	0.003	0.02	0.02	0.005	0.005	0.02	0.02	0.002	0.002	0.02	0.02
10 群	0.005	0.005	0.03	0.03	0.007	0.007	0.02	0.02	0.002	0.002	0.01	0.01
11 群	0.001	0.001	0.00	0.00	0.001	0.001	0.00	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00
12 群	0.001	0.001	0.00	0.00	0.001	0.001	0.00	0.00	0.001	0.001	0.00	0.00
13 群	0.002	0.002	0.01	0.01	0.003	0.003	0.01	0.01	0.001	0.001	0.01	0.01
14 群	0.000	0.000	0.00	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00
合計	0.044	0.044	0.26	0.27	0.054	0.055	0.15	0.15	0.020	0.021	0.12	0.12

LB 法: 不検出となった値に 0 を代入して算出した。

MB 法: 不検出となった値に LOQ の半値を代入して算出した。

Table 6 つづき

食品群	Lu		W		Hg		Tl		Pb		U	
	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法
1 群	0.000	0.000	0.17	0.18	0.36	0.36	0.00	0.01	0.32	0.36	0.00	0.00
2 群	0.002	0.002	0.21	0.21	0.01	0.01	0.17	0.17	0.17	0.27	0.05	0.05
3 群	0.000	0.000	0.30	0.30	0.01	0.01	0.04	0.04	0.06	0.08	0.01	0.01
4 群	0.000	0.000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.00	0.00
5 群	0.001	0.001	0.05	0.05	0.01	0.01	0.02	0.02	0.11	0.14	0.03	0.03
6 群	0.000	0.000	0.02	0.03	0.01	0.01	0.05	0.05	0.11	0.18	0.00	0.00
7 群	0.001	0.001	0.00	0.19	0.01	0.01	0.29	0.29	0.26	0.27	0.02	0.02
8 群	0.008	0.008	0.00	0.39	0.05	0.05	0.66	0.66	0.73	0.73	0.66	0.66
9 群	0.002	0.002	0.89	1.08	0.00	0.01	0.05	0.06	0.67	0.92	0.03	0.03
10 群	0.002	0.002	0.00	0.14	4.40	4.40	0.04	0.04	0.44	0.44	0.20	0.20
11 群	0.000	0.000	0.00	0.27	0.15	0.15	0.22	0.22	0.08	0.13	0.05	0.05
12 群	0.001	0.001	0.00	0.07	0.00	0.00	0.03	0.03	0.00	0.11	0.02	0.02
13 群	0.001	0.001	0.19	0.21	0.02	0.02	0.03	0.03	0.27	0.27	0.03	0.03
14 群	0.000	0.000	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.04	0.04	0.00	0.00
合計	0.019	0.019	1.85	3.13	5.03	5.04	1.60	1.61	3.26	3.96	1.10	1.11

LB 法: 不検出となった値に 0 を代入して算出した。

MB 法: 不検出となった値に LOQ の半値を代入して算出した。

Table 7 2024 年に実施したトータルダイエット研究により推定したヒ素化学種の一日摂取量の平均値 (μg/person/day as As)

食品群	iAs		MMAs		DMAs		AsB	
	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法	LB 法	MB 法
1 群	13.7	14.4	0.00	0.14	3.53	3.53	0.00	0.19
2 群	0.55	0.84	0.00	0.14	0.00	0.14	0.00	0.14
3 群	0.23	0.30	0.00	0.02	0.06	0.07	0.00	0.02
4 群	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5 群	0.07	0.20	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.02
6 群	0.06	0.23	0.00	0.03	0.00	0.03	0.00	0.03
7 群	0.02	0.21	0.00	0.03	0.00	0.03	0.00	0.03
8 群	1.77	2.01	0.13	0.19	2.27	2.27	0.17	0.24
9 群	0.00	1.17	0.00	0.17	0.00	0.18	0.00	0.14
10 群	0.50	0.66	0.52	0.52	1.06	1.06	76.6	76.6
11 群	0.06	0.23	0.02	0.05	0.02	0.07	0.24	0.25
12 群	0.00	0.23	0.00	0.04	0.00	0.04	0.00	0.03
13 群	0.37	0.52	0.00	0.03	0.11	0.11	0.90	0.90
14 群	0.04	0.14	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.02
合計	17.4	21.2	0.67	1.39	7.05	7.57	77.9	78.7

LB 法: 不検出となった値に 0 を代入して算出した。

MB 法: 不検出となった値に LOQ の半値を代入して算出した。

Table 8 メチル水銀の推定一日摂取量と総水銀に対するメチル水銀の割合*

食品群	Me-Hg (μg/person/day as Hg)	Me-Hg の割合 (%)
1 群	0.31	86.2
10 群	3.27	74.4
11 群	0.11	76.7
1+10+11 群	3.69	–

* 調査した全ての試料から Me-Hg は検出された。

Table 9 2024 年に実施したトータルダイエット研究により推定した一日摂取量の平均値と健康リスク評価

元素	HBGV [a] (μg/kg/day)	POD [b] (μg/kg/day)	出典及び参照値	推定摂取量 [c] (μg/kg/day)	ハザード比 (HQ)	ばく露マージン (MOE)
B	96 – 200		US EPA (2004)、RfD: 200 μg/kg/day (発達) 食品安全委員会 (2012)、TDI: 96 μg/kg/day	22.1	0.11 – 0.23	−
Al	143 – 300		EFSA (2008)、TWI: 1000 μg/kg/week 食品安全委員会 (2017)、TWI: 2100 μg/kg/week	47.5	0.16 – 0.33	−
V	9		US EPA (1988)、RfD: 9 μg/kg/day (5 価、毛髪中システィンの減少)	0.22[d]	0.02	−
Mn	140		US EPA (1995)、RfD: 140 μg/kg/day (中枢神経系への影響)	69.1	0.49	−
Ni	2.8 – 20		US EPA (1991)、RfD: 20 μg/kg/day (体重及び組織重量の減少) 食品安全委員会 (2012)、TDI: 4.0 μg/kg/day (皮膚炎) EFSA (2015) TDI: 2.8 μg/kg/day	2.79	0.14 − 1.00	−
iAs	0.21 – 0.30	3.0	US EPA (1991)、RfD: 0.3 μg/kg/day (心臓血管、皮膚) EFSA (2005)、TWI (暫定): 1.5 μg/kg/week JECFA (2011)、$BMDL_{0.5}$: 3.0 μg/kg/day (ヒト肺癌)	0.39	1.28 – 1.80	7.8 [UFs^e=40]
MMAs	−	9700	EFSA CONTAM (2024)、RP: 9700 μg/kg/day	0.025	−	3.8×10^5 [UFs^e=500]
DMAs	10.9	600	US ATSDR (2007)、MRL: 20 μg/kg/day (DMAs として) EFSA CONTAM (2024)、RP: 600 μg/kg/day (As として)	0.14	0.013	4359 [UFs^e=10000]
Se	4.0 – 5.0		US EPA (1991)、RfD: 5.0 μg/kg/day (神経系、血液系、皮膚) 食品安全委員会 (2012)、TDI: 4.0 μg/kg/day	1.65	0.33 – 0.41	−
Mo	5.0		US EPA (1992)、RfD: 5.0 μg/kg/day (尿酸値の上昇)	4.00	0.80	−
Cd	0.36 – 1.0		US EPA (1988)、RfD: 1.0 μg/kg/day (食品)、1.0 μg/kg/day (水) (顕著なタンパク尿) 食品安全委員会 (2008)、TWI (Oral): 7.0 μg/kg/week EFSA (2011)、TWI: 2.5 μg/kg/week WHO/JECFA (2013)、PTMI: 25 μg/kg/month	0.24	0.24 – 0.68	−

a: Health-based guidance value、b: Point of departure、c: ND=0.5LOQ を代入し、体重を 55 kg として算出した、d: 中央値、e: 安全係数積、f: 総水銀からメチル水銀の摂取量を差し引いて算出した、g: 1 群、10 群、及び 11 群のみの総和から算出した、h: 幼児 (1-6 歳) の推定摂取量。摂取カロリーを基に 0.688 倍した。体重は 15 kg として算出した。

Table 9 つづき

元素	HBGV [a] (μg/kg/day)	POD [b] (μg/kg/day)	出典及び参照値	推定摂取量 [c] (μg/kg/day)	ハザード比 (HQ)	ばく露マージン (MOE)
Sn	2000		WHO/JECFA (1988)、PTWI: 14000 μg/kg/week	6.17	3.1×10^{-3}	–
Sb	0.4 – 6		US EPA (1987)、RfD : 0.4 μg/kg/day (血液系、Other) EFSA (2004) TDI: 6 μg/kg/day (3 価)	0.022	0.004 – 0.056	–
Ba	20 – 200		US EPA (2005)、RfD: 200 μg/kg/day (腎毒性) 食品安全委員会 (2012)、TDI: 20 μg/kg/day (高血圧、心臓病、腎臓病)	7.46	0.04 – 0.37	–
iHg	0.57		WHO/JECFA (2011)、PTWI: 4 μg/kg/week	0.024[f]	0.043	–
Me-Hg	0.19 – 0.29		EFSA (2012)、TWI : 1.3 μg/kg/week WHO/JECFA (2007)、PTWI: 1.6 μg/kg/week 食品安全委員会 (2005)、TWI (Oral): 2.0 μg/kg/week	0.067[g]	0.24 – 0.36	–
Tl	–	10 – 40	US EPA (2009)、$BMDL_{10}$: 10 μg/kg/day (臨床所見)、40 μg/kg/day (毛包委縮)	0.029	–	341 – 1363 [UFs^e=3000]
Pb	–	0.5 – 1.5	EFSA (2010)、$BMDL_{01}$: 0.50 μg/kg/day (発達神経毒性)、$BMDL_{01}$: 1.50 μg/kg/day (血圧への影響)、$BMDL_{10}$: 0.63 μg/kg/day (慢性腎臓病)	0.072 (0.182)[h]	–	2.8 – 20.8 [UFs^e = 1]
U	0.2 – 3.0		US EPA (1989)、RfD (Oral): 3.0 μg/kg/day (膀胱、その他) EFSA Contam (2009)、TDI (暫定): 0.6 μg/kg/day 食品安全委員会 (2012) TDI: 0.2 μg/kg/day	0.02	0.01 – 0.10	–

a: Health-based guidance value、b: Point of departure、c: ND=0.5LOQ を代入し、体重を 55 kg として算出した、d: 中央値、e: 安全係数積、f: 総水銀からメチル水銀の摂取量を差し引いて算出した、g: 1 群、10 群、及び 11 群のみの総和から算出した、h: 幼児 (1-6 歳) の推定摂取量。摂取カロリーを基に 0.688 倍した。体重は 15 kg として算出した。

Table 10 微量ミネラルの推定摂取量と日本人の食事摂取基準 (2020 年版)[a] との比較

元素	推定摂取量 (μg/person/day)	推定平均必要量 [b] (μg/day)	推奨量 [b] (μg/day)	耐用上限値 [b] (μg/day)
Cr	61.2	−	10[c] (18 歳以上)	500 (18 歳以上)
Mn	3800	−	1500 – 4000[c]	11000 (18 歳以上)
Fe	7593	3000 – 8000	4500 – 12000	20000 – 50000
Cu	1194	200 – 700	300 – 900	7000 (18 歳以上)
Zn	9152	2000 – 10000	3000 – 12000	30000 – 45000 (18 歳以上)
Se	90.6	10 – 30	10 – 35	100 – 450
Mo	220	10 – 25	10 – 30	500 – 600 (18 歳以上)

a:「日本人の食事摂取基準 (2020 年版)」策定検討会報告書より引用

b: 性別及び年齢等により必要量、推奨量及び耐用上限値は異なり、1 歳以上を対象としてその範囲を記載している。妊婦及び授乳婦に対する付加量は含まない。

c: 目安量

Table 11 幼児 (1 – 6 歳) の体重当たり喫食量 (g/kg) に関する確率密度分布のパラメーターに関するベイズ推定の結果

Food Group	Weight			Estimated mean	Estimated SD[a]
	Tweedie 分布	ZILN 分布	ZIG 分布		
1	1.000	0.000	0.000	13.13 ± 0.23	8.80 ± 0.52
2	1.000	0.000	0.000	7.01 ± 0.18	5.22 ± 0.27
3	0.000	0.000	1.000	1.972 ± 0.077	2.25 ± 0.10
4	0.000	0.000	1.000	0.412 ± 0.013	0.368 ± 0.013
5	0.000	0.000	1.000	2.19 ± 0.10	2.71 ± 0.12
6	1.000	0.000	0.000	6.34 ± 0.23	11.93 ± 0.57
7	0.000	0.000	1.000	3.76 ± 0.13	3.55 ± 0.14
8	1.000	0.000	0.000	6.51 ± 0.16	4.73 ± 0.22
9	1.000	0.000	0.000	15.93 ± 0.60	33.0 ± 1.7
10	1.000	0.000	0.000	1.938 ± 0.081	3.43 ± 0.19
11	1.000	0.000	0.000	5.29 ± 0.13	3.70 ± 0.17
12	1.000	0.000	0.000	13.52 ± 0.46	22.8 ± 1.1
13	0.000	1.000	0.000	2.447 ± 0.080	2.40 ± 0.14

a: standard deviation

Table 12 Pb 濃度 (ng/g) に関する確率密度分布のパラメーターに関するベイズ推定の結果

Food Group	Weight			Estimated mean	Estimated SD[a]
	対数正規分布	ガンマ分布	ワイブル分布		
1	0.000	0.856	0.143	1.00 ± 0.15	0.65 ± 0.17
2	0.000	1.000	0.000	2.37 ± 0.17	0.86 ± 0.15
3	0.999	0.000	0.000	3.25 ± 0.58	3.93 ± 1.51
4	0.962	0.000	0.038	0.464 ± 0.178	2.31 ± 3.34
5	1.000	0.000	0.000	4.17 ± 0.94	5.16 ± 2.40
6	0.996	0.002	0.002	2.27 ± 0.57	3.76 ± 2.04
7	0.999	0.001	0.000	3.18 ± 0.41	2.96 ± 0.74
8	1.000	0.000	0.000	5.44 ± 0.66	4.25 ± 1.03
9	0.927	0.015	0.058	1.41 ± 0.26	1.60 ± 0.56
10	1.000	0.000	0.000	6.91 ± 1.12	5.14 ± 1.87
11	0.991	0.000	0.009	1.86 ± 0.84	14.3 ± 14.2
12	0.997	0.000	0.003	0.756 ± 0.427	8.21 ± 12.35
13	1.000	0.000	0.000	4.37 ± 0.48	3.18 ± 0.67
14	0.999	0.001	0.001	0.315 ± 0.051	0.457 ± 0.127

a: standard deviation

Table 13 二次元モンテカルロシミュレーションを用いた幼児 (1 – 6 歳) の推定 Pb 摂取量 (μg/kg/day) 分布

Food group	Mean[a]	Standard deviation[a]	5th percentile	25th percentile	50th percentile	75th percentile	95th percentile	Mean contribution ratio (%)[a]
1	0.013 ± 0.002	0.011 ± 0.003	0.002	0.005	0.010	0.017	0.035	7.37 ± 1.43
2	0.017 ± 0.002	0.014 ± 0.002	0.002	0.007	0.013	0.023	0.042	9.38 ± 1.39
3	0.006 ± 0.002	0.013 ± 0.008	0.000	0.001	0.002	0.007	0.025	3.60 ± 1.09
4	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.11 ± 0.08
5	0.009 ± 0.003	0.019 ± 0.012	0.000	0.000	0.003	0.010	0.037	5.13 ± 1.70
6	0.014 ± 0.005	0.032 ± 0.027	0.000	0.001	0.004	0.014	0.057	7.95 ± 2.82
7	0.012 ± 0.003	0.018 ± 0.007	0.000	0.002	0.006	0.014	0.042	6.73 ± 1.49
8	0.035 ± 0.006	0.040 ± 0.013	0.003	0.011	0.023	0.045	0.107	19.85 ± 3.35
9	0.023 ± 0.006	0.042 ± 0.022	0.000	0.002	0.009	0.025	0.087	12.57 ± 3.23
10	0.014 ± 0.003	0.022 ± 0.009	0.000	0.000	0.006	0.017	0.052	7.56 ± 1.84
11	0.010 ± 0.016	0.043 ± 0.151	0.000	0.000	0.001	0.005	0.034	5.44 ± 4.57
12	0.011 ± 0.039	0.056 ± 0.370	0.000	0.000	0.001	0.004	0.033	5.41 ± 5.56
13	0.011 ± 0.002	0.014 ± 0.006	0.001	0.003	0.006	0.013	0.034	6.04 ± 1.22
14	0.005 ± 0.001	0.007 ± 0.003	0.001	0.001	0.003	0.006	0.016	2.85 ± 0.66
Total	0.181 ± 0.044	0.137 ± 0.392	0.076	0.115	0.154	0.209	0.346	–

a: 二次元モンテカルロシミュレーションに用いた 2000 個のパラメーターセットにおける推定の不確かさ

Table 14 地域ブロック別の体重当たり喫食量 (g/kg/day) を補正する重み付け係数

Area block	1 – 6 years old	7 – 19 years old	20 – 59 years old	60 – 79 years old	≥80 years old
A	0.0416	0.1057	0.4712	0.2824	0.0991
B	0.0363	0.0986	0.4220	0.3114	0.1317
C	0.0421	0.1104	0.4470	0.2859	0.1145
D	0.0421	0.1104	0.4470	0.2859	0.1145
E	0.0435	0.1129	0.4408	0.2837	0.1191
F	0.0455	0.1170	0.4817	0.2724	0.0834
G	0.0439	0.1126	0.4605	0.2796	0.1034
H	0.0451	0.1183	0.4774	0.2693	0.0899
I	0.0473	0.1151	0.5145	0.2532	0.0699
J	0.0462	0.1141	0.5081	0.2564	0.0751

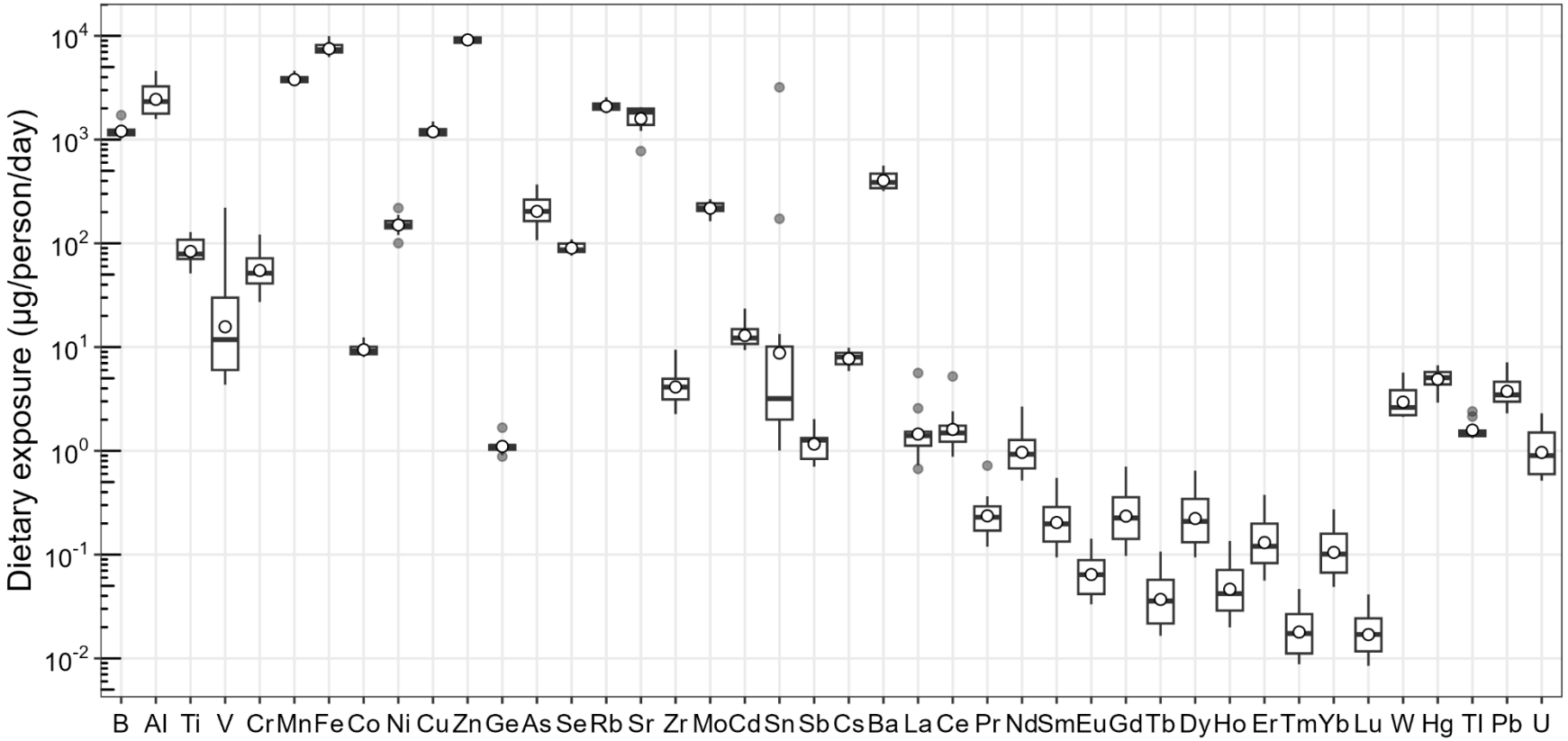


Fig. 1 2024 年に 10 地域の TD 試料から推定した元素類の推定一日摂取量

ND となった測定結果には LOQ の半値を代入した。白丸: 幾何平均値; 横線: 中央値; 箱: 四分位範囲; ひげ: [第 1 四分位点-1.5×四分位、第 3 四分位点+1.5×四分位] 範囲内の最大/最小値; 灰色丸: 外れ値

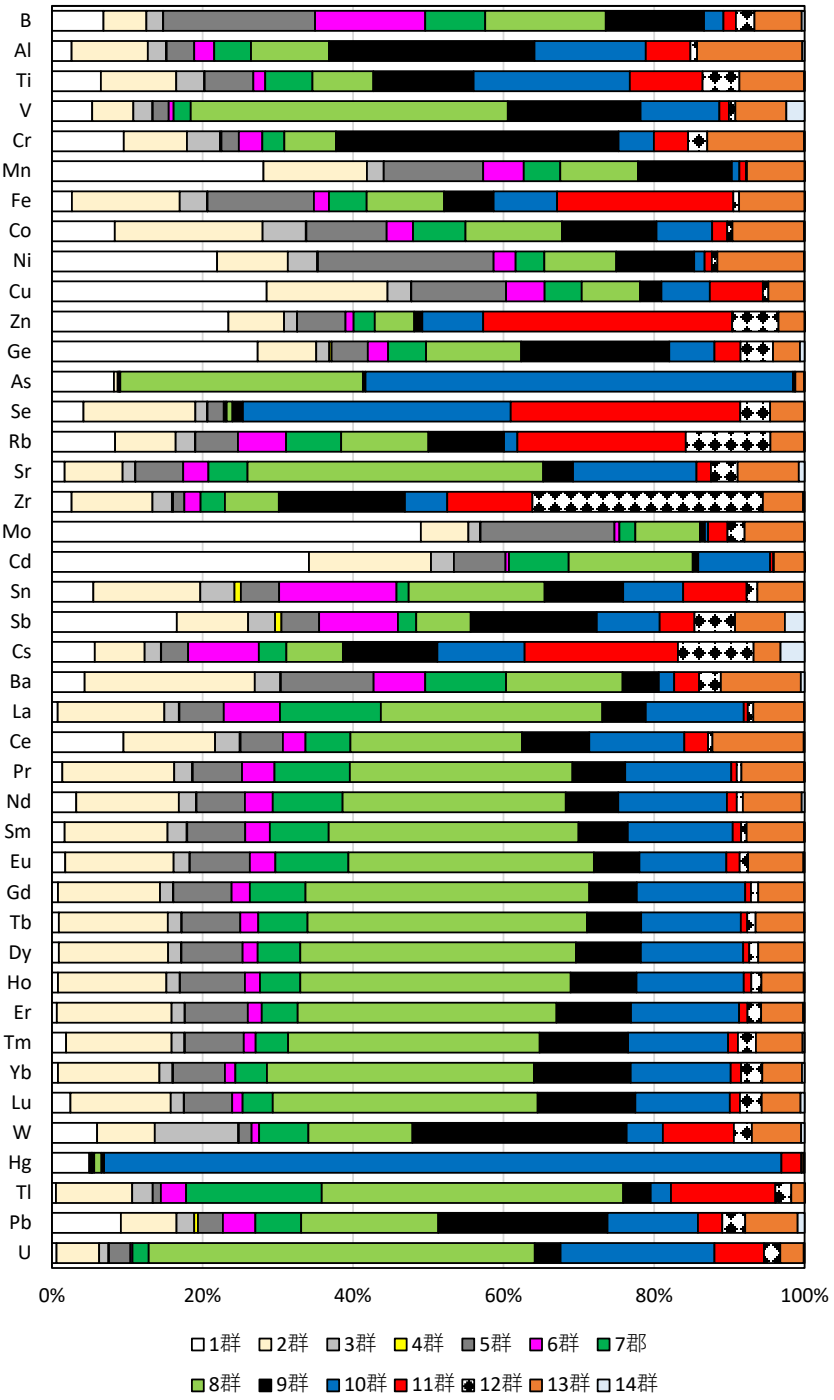


Fig. 2 2024 年に行った TD 研究における有害元素摂取量の各食品群の平均寄与率
ND となった測定結果には LOQ の半値を代入して算出した。

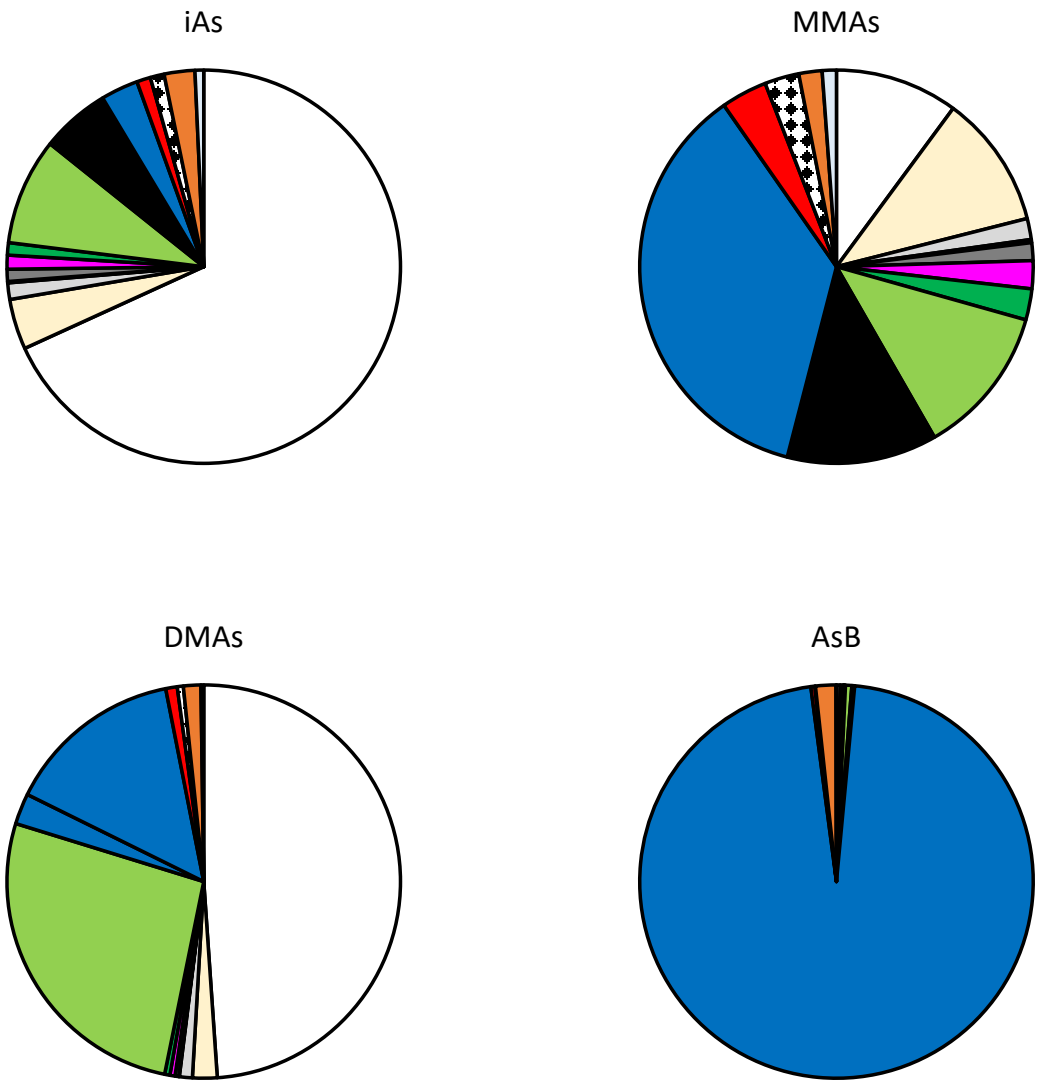


Fig. 3 2024 年に行った TD 研究における As 化学種の摂取量における各食品群の寄与率
ND となった測定結果には LOQ の半値を代入した。

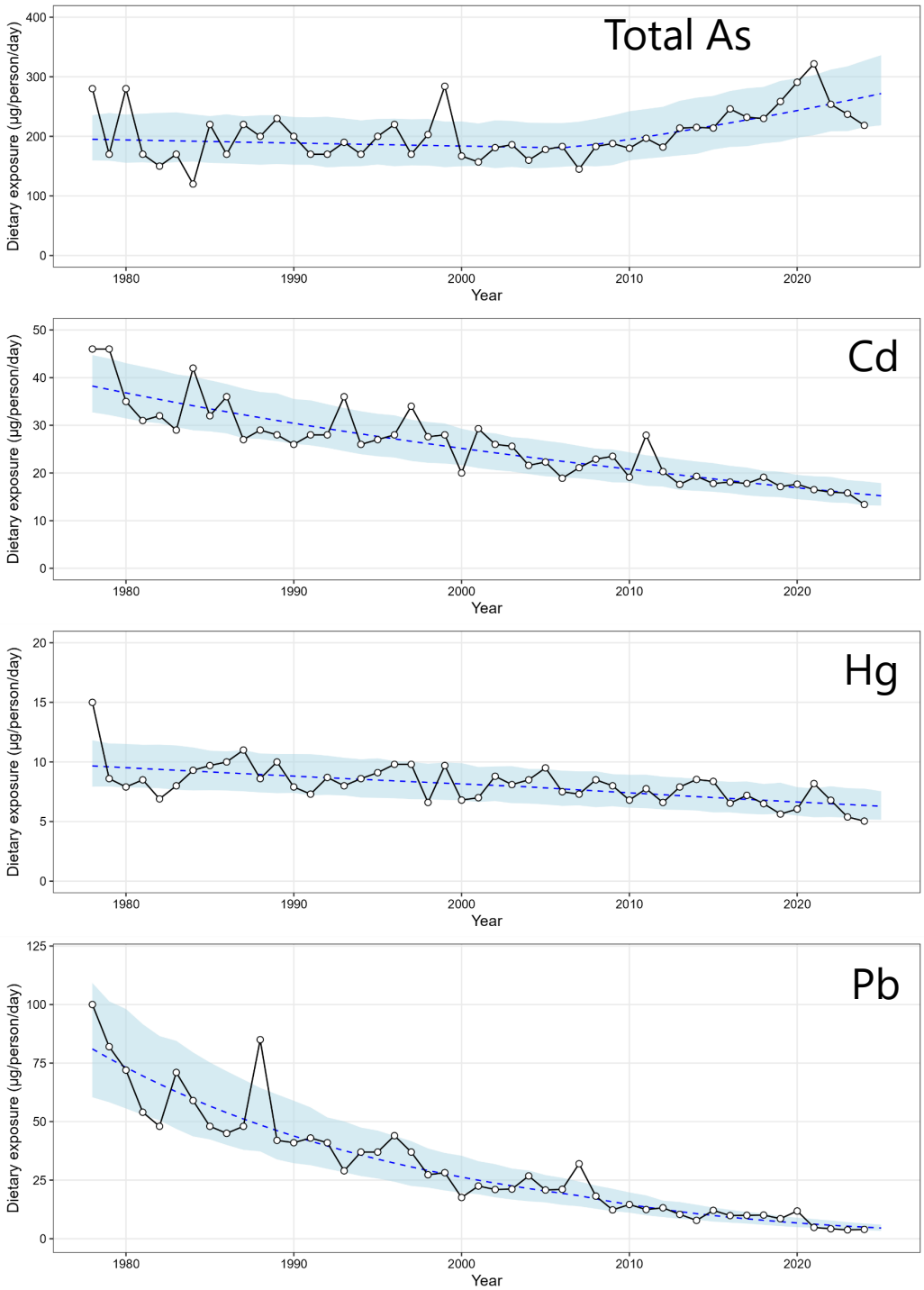


Fig. 4 As、Cd、Hg、Pb の推定一日摂取量の経年変動

1978 年のデータは 1977-1978 年に行ったデータ。ND となったデータには 0 を代入し平均値を算出した。青破線はトレンドを、水色のエリアは 80%予測区間を示す。

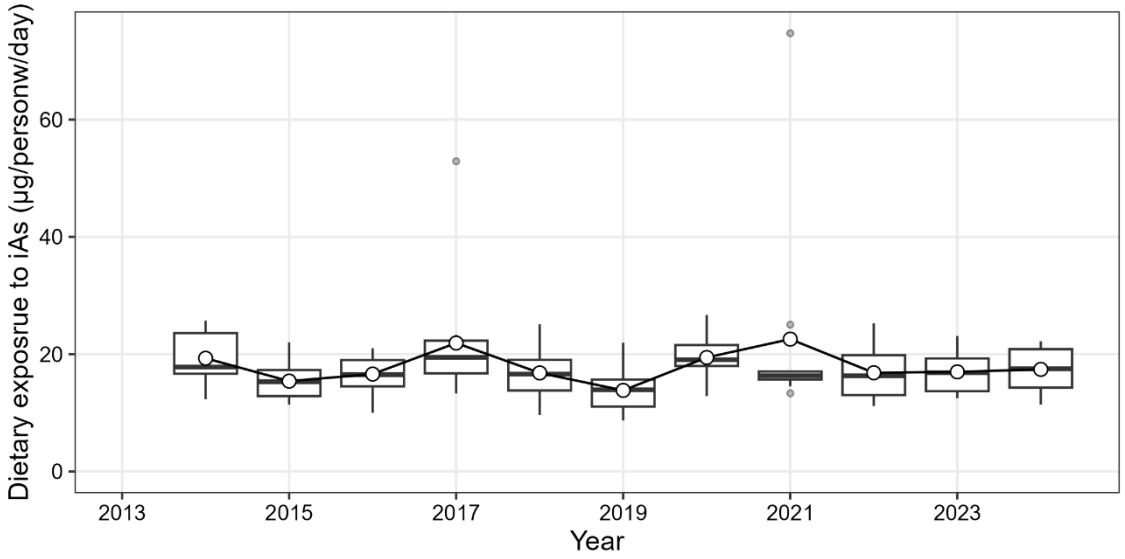


Fig. 5 iAs 摂取量の経年変動

ND となったデータには 0 を代入し算出した。白丸: 平均値; 横線: 中央値; 箱: 四分位範囲; ひげ: [第 1 四分位点-1.5×四分位範囲、第 3 四分位点+1.5×四分位範囲]内の最大/最小値 ; 灰色丸: 外れ値

秤量

↓ 試料: 1.0 g

抽出

↓ 分析用試料 1.0 g を量りとり、10 mL ガラス製ネジ口試験管に入れる

↓ 0.3 mol/L HNO_3 を 2 mL 添加し、ボルテックスミキサーで撹拌する

↓ 試験管を 100°C で 2 時間加熱後 (30 分毎にボルテックスミキサーで撹拌)、室温で放冷

↓ 超純水 5 mL を加え、ボルテックスミキサーで撹拌した後、遠心分離 (3500 rpm、10 min) で得られた上清を 20 mL メスフラスコに分取。この操作を計 3 回行う

↓ 超純水で 20mL に定容

↓ 定容後の溶液 2 mL に対し、濃塩酸 15.3 mL を添加し、0.2% (w/v) となるようチオ尿素を添加、撹拌後 20 分静置 (①)

固相抽出

↓ Supelclean™ENVI™-Chrom P SPE チューブ (250 mg、volume 3 mL、Supelco) をメタノール 3 mL、超純水 3 mL、10 mol/L HCl 2 mL でコンディショニング (流速: ca. 0.6 mL/min)

↓ ①を全量負荷 (流速: ca. 0.6 mL/min)

↓ 10 mol/L HCl 2 mL で洗浄 (流速: ca. 0.6 mL/min)

↓ 乾燥 (10 min)

↓ 超純水 2 mL で溶出 (流速: ca. 0.6 mL/min)

↓ 内標準物質として In を添加し、超純水で 20 mL に定容

ICP-MS

- As(III)標準溶液をもちいて、0.7% (v/v) HCl、0.3 mol/L HNO_3 を含む検量線溶液を 10 点 (0.025 – 5.0 ng/mL) 作成
- KED モードで定量分析

Fig. 6 無機ヒ素の簡易分析法のフロー

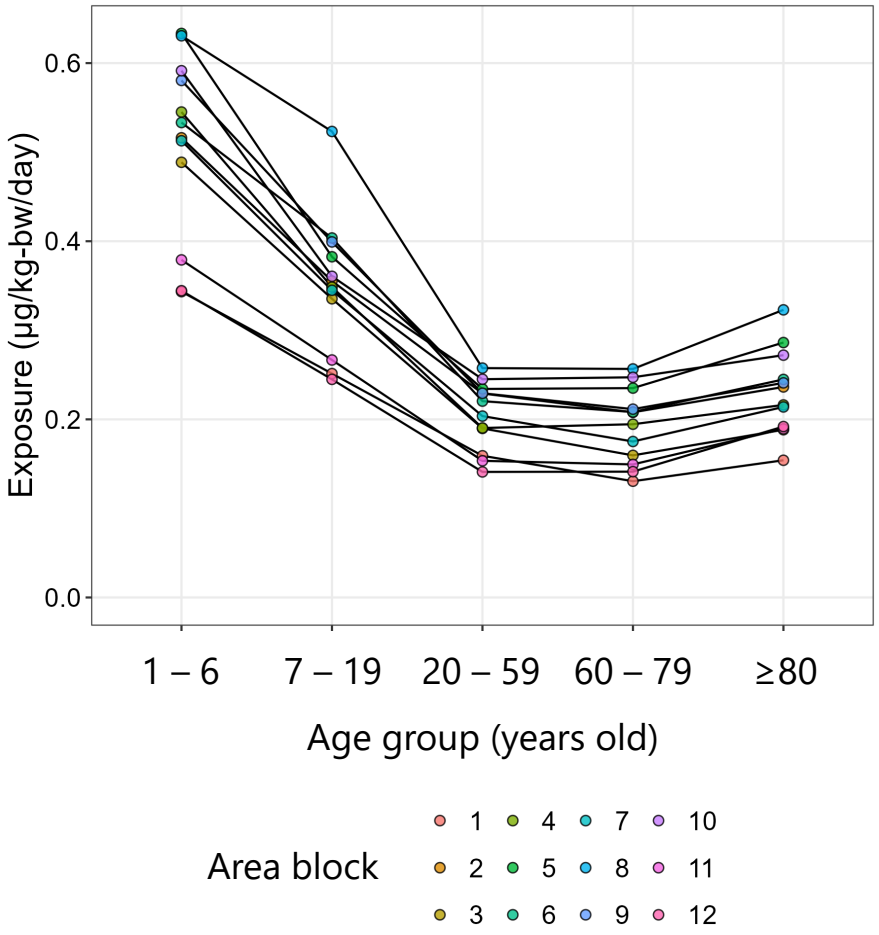


Fig. 7 地域ブロック別年齢層別の米由来 iAs の推定摂取量

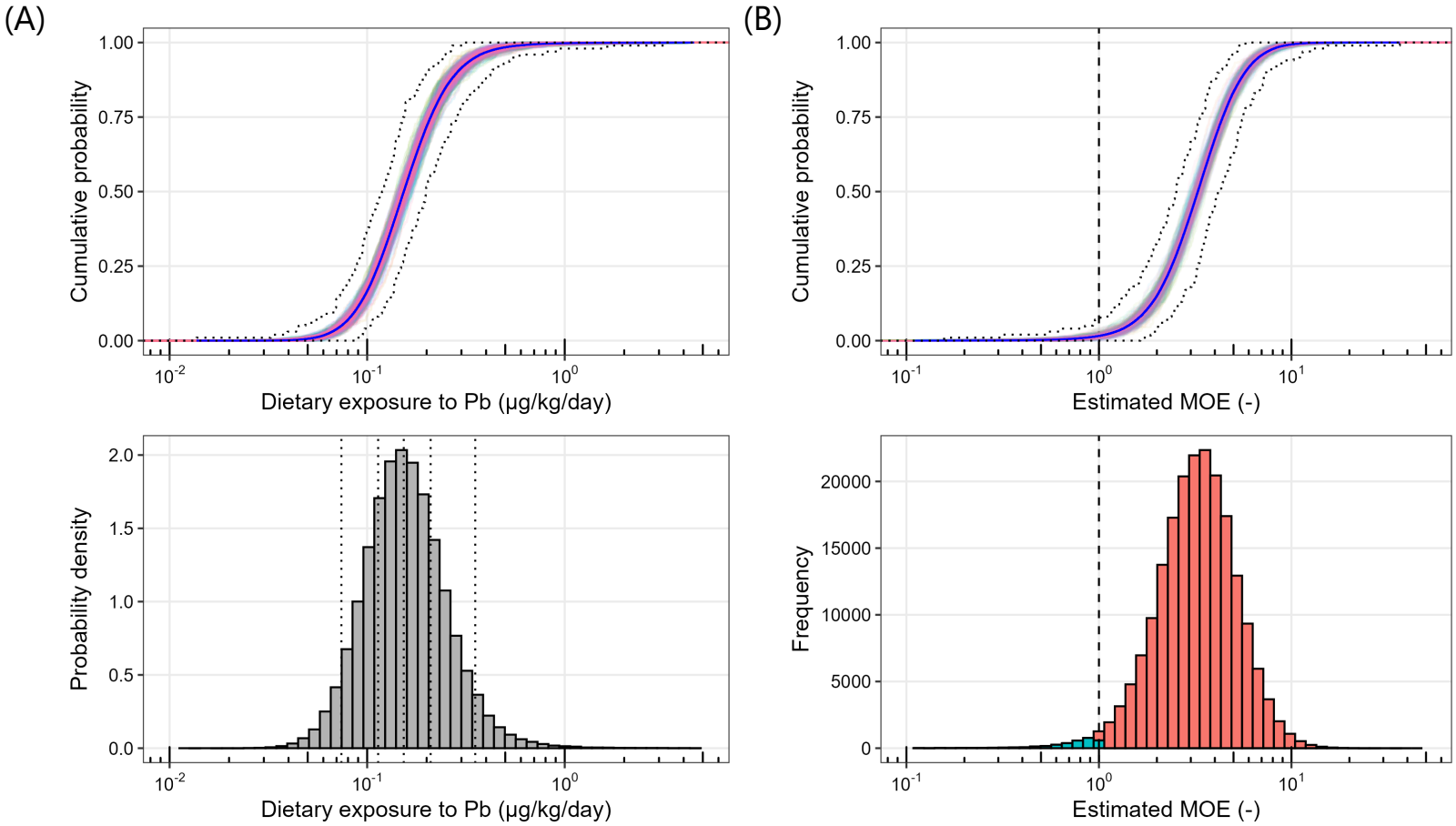
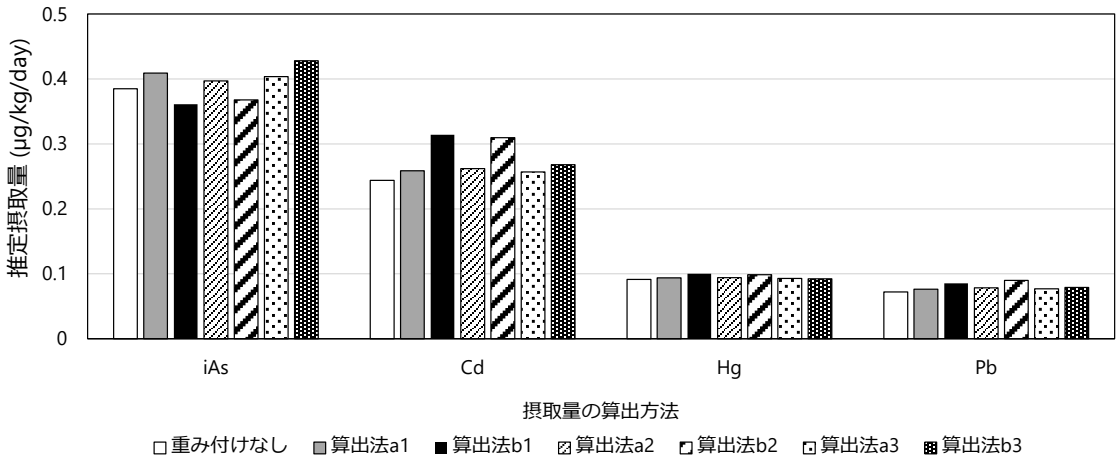


Fig. 8 幼児 (1 – 6 歳) に対する鉛の摂取量分布 (A) 及びばく露マージン分布 (B)。上段は経験的累積分布関数 (eCDF) を下段はヒストグラムを示す。上段の青線はアンサンブルシミュレーションから取得された eCDF を、他の色の線は 2000 個のパラメーターから取得された eCDF を、点線の領域はアンサンブル eCDF の最も広い範囲である確率ボックスを示す。



摂取量の算出方法	喫食量	濃度	代表値の算出方法
重み付けなし	重み付けなし: 各地域における喫食量の平均値	各地域の濃度	単純平均/平均体重
算出法a1	重み付けa: 年齢構成で重み付けした各地域の体重当たり喫食量	各地域の濃度	方法1: 単純平均
算出法b1	重み付けb: ばく露期間で重み付けした各地域の体重当たり喫食量	各地域の濃度	方法1: 単純平均
算出法a2	重み付けa: 年齢構成で重み付けした各地域の体重当たり喫食量	各地域の濃度	方法2: 人口重み付け平均
算出法b2	重み付けb: ばく露期間で重み付けした各地域の体重当たり喫食量	各地域の濃度	方法2: 人口重み付け平均
算出法a3	重み付けa: 年齢構成で重み付けした体重当たり喫食量を人口で重み付けした平均値	平均濃度	方法3: Σ(平均×平均)
算出法a3	重み付けb: ばく露期間で重み付けした体重当たり喫食量を人口で重み付けした平均値	平均濃度	方法3: Σ(平均×平均)

Fig. 9 有害元素の推定摂取量における算出方法による推定値の差異

Ⅱ．分担研究報告書

(3)有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1)GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

(3-1-1)EI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

研究分担者　堤　智昭

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

(3)有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究
(3-1)GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討
(3-1-1)EI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

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

GC-MS/MSを用いた食品中のダイオキシン類分析の検討として、引き続き本年度は、EI法を用いたGC-MS/MSのさらなる検討を行った。昨年度の検討において、ダイオキシン類の分析性能は良好であったものの、マトリックスが多いと思われる食品試料を測定した後に、大幅な感度低下が観察された。PCDD/PCDFs測定に使用するGCカラムをBPX-DXNに変更した結果、大幅な感度低下が認められなかったことから、本年度はBPX-DXNを使用してダイオキシン類分析の性能評価を実施した。変更した測定条件により検量線用標準溶液を測定した結果、相対感度係数の変動係数は10%以下であり、良好な結果であった。また、最低濃度の検量線用標準溶液を繰り返し測定して、試料測定時（50 g使用時）のダイオキシン類の定量下限値（LOQs）を推定した結果、LOQsは「食品中のダイオキシン類測定方法暫定ガイドライン」で示されている目標検出下限を満たしていた。次にボラ、牛肉、及び鶏卵を用いてGC-MS/MSと高分解能GC/MSによるダイオキシン類の分析結果を比較した。GC-MS/MSの各異性体濃度の平均値は高分解能GC/MSに対して、ボラで90～110%、牛肉で91～108%、及び鶏卵で90～106%であり良く一致していた。また、マグロ、牛肉、および鶏卵を対象にダイオキシン類の添加回収試験を実施した結果、各異性体の真度は88-106%、併行精度は10%以下であり、良好な結果が得られた。さらに、認証標準試料（キングサーモン）を分析した結果、LOQs以上となった異性体は認証値（又は参考値）の平均値±2SDの範囲内であった。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

足立利華、高附 巧、張 天斉、鍋師裕美

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、高分解能GC/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（以下、ガイドライン）[1)]にもその使用が記載されている。しかし、高分解能GC/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は高分解能GC/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高分解能GC/MSと共に、GC-MS/MSの使用

が認められている[2]。また、最近ではGC-MS/MSの高感度化が進んでおり、食品中のダイオキシン類分析への利用が進みつつある[3, 4]。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限られている。特に畜水産物はダイオキシン類摂取量に占める割合が大きいことから、これらの食品を対象にGC-MS/MSを用いた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。令和4年度と令和5年度は、電子イオン化(EI)法によるGC-MS/MSを用いた魚中のダイオキシン類の分析条件を検討した[5, 6]。ダイオキシン類の分析性能は良好であったものの、検討した分析条件ではマトリックスが多いと思われる食品試料を測定した後に大幅な感度低下が観察された[6]。そこで本年度は、GC-MS/MSで使用するGCカラムを変更して、大幅な感度低下が生じないか検討した後、ダイオキシン類の分析性能を評価した。

B. 研究方法

1. 試薬及び器具

クリーンアップスパイク標準溶液は、(株)ウェリントンラボラトリージャパンより NK-LCS-AD、MBP-MXF、及び MBP-MXK を購入した。シリンジスパイク標準溶液は、(株)ウェリントンラボラトリージャパンより NK-SS-F 及び MBP-79-500 を購入した。PCDD/PCDFs 混合溶液、ノンオルト PCB 混合溶液、及びモノオルト PCB 混合溶液は、(株)ウェリントンラボラトリージャパンよりそれぞれ NK-ST-B4、NK-LCS-AD 、NK-SS-F 、MBP-MXF [1:100]、及び MBP-MXK [1:10]を購入した。検量線用 PCDD/PCDFs 標準溶液は(株)ウェリントンラボラトリージャパンより FDU-CS1～CS5 を購入した。最低濃度の検量線用 PCDD/PCDFs 標準溶液は、NK-ST-B4、NK-LCS-AD、NK-SS-F より調製した。検量線用 Co-PCBs 標準溶液は、(株)ウェリントンラボラトリージャパンより PCB-A5-CSL、 FAT-CS1～CS5 を購入した。

アセトン(ダイオキシン類分析用) 、メタノール(ダイオキシン類分析用)、ジクロロメタン(ダイオキシン類分析用)、水酸化カリウム(特級)、ヘキサン(ダイオキシン類分析用)、トルエン(ダイオキシン類分析用)、無水硫酸ナトリウム(PCB 分析用)、アルミナは関東化学(株)より購入した。ノナン(ダイオキシン類分析用)、硫酸(特級)、塩化ナトリウム(特級)は富士フイルム和光純薬(株) より購入した。ヘキサン洗浄水は、ミリポア Milli-Q Integral 10 環境分析タイプから採取した超純水をヘキサンで洗浄し使用した。

多層シリカゲルカラム(内径 15 mm、長さ 30 cm のカラムにシリカゲル 0.9 g、2%KOH シリカゲル 3 g、シリカゲル 0.9 g、44%硫酸シリカゲル 4.5 g、22%硫酸シリカゲル 6 g、シリカゲル 0.9 g、10%硝酸銀シリカゲル 3 g、シリカゲル 0.9 g 及び無水硫酸ナトリウム 6 g 順次充填)は、ジーエルサイエンス(株)より購入した。アルミナカラムは、内径 15 mm、長さ 30 cm 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。活性炭分散シリカゲルリバースカラムは関東化学(株)より購入した。

GC キャピラリーカラムは、BPX-DXN (内径 0.25 mm×60 m)をトレイジャンサイエンティフィックジャパン株式会社(SGE)より、RH-12ms (内径 0.25 mm×60 m)を INVENTX 社より購入した。

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. 機器

・ホモジナイザー:レッチェ社製 GM200

・GC-MS/MS : TSQ 9000 トリプル四重極 GC-MS/MS システム(Thermo Scientific 社製) with advanced electron ionization (AEI) source

・高分解能 GC/MS: 7890B (Agilent Technologies)/MStation JMS-800D UltraFOCUS 日本電子(株)社製

3. GC-MS/MS によるダイオキシン類分析

3-1. 試験溶液の調製

試料(50 g(認証標準試料は約 4 g))をビーカーに量りとり、クリーンアップスパイク(^{13}C 標識したPCDD/PCDFs各 50 pg(OCDD/F は 100 pg)、ノンオルト PCBs 各 100 pg、モノオルト PCBs 各 2.5 ng)を加えた後、2 mol/L 水酸化カリウム水溶液を 200 mL 加え室温で約 16 時間放置した。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 150 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 150 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 10 mL で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルをヘキサン 200 mL で洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサン 200 mL で溶出した。溶出液は溶媒を留去し、約 2 mL のヘキサンに溶解した。ヘキサンで湿式充填したアルミナカラムに試験溶液を注入し、ヘキサン 150 mL で洗浄後、2%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 200 mL 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 200 mL 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た後、活性炭分散シリカゲルリバースカラムに注入し、30 分程度放置した。ヘキサン 40 mL でカラムを洗浄後、25%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 60 mL でモノオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリジンスパイク 500 μL(^{13}C 標識体 2.5 ng)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スカラムに注入し、10 分程度放置した。25%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 80 mL でカラムを洗浄後、カラムを反転させ、トルエン 40 mL 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 25 μL(PCDD/PCDFs 用 ^{13}C 標識体 50 pg、ノンオルト PCB 用 ^{13}C 標識体 125 pg)を添加し GC-MS/MS に供した。

3-2. GC-MS/MS 測定条件

1)GC 条件

① 2,3,7,8 － TeCDD 、1,2,3,7,8 － PeCDD 、1,2,3,7,8 － PeCDF 、1,2,3,4,7,8 － 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 － TeCDF 、1,2,3,7,8 － PeCDF 、1,2,3,4,7,8 － HxCDF 、1,2,3,6,7,8 － 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:BPX-DXN(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:280℃

注入量:2 μL

昇温条件:140℃(1 分保持)-20℃/分-220℃-2℃/分-260℃(2.6 分保持) -5℃/分-292℃-1℃/分-293℃-15℃/分-320℃(9 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.2 mL/分)

②2,3,4,7,8－PeCDF、1,2,3,7,8,9－HxCDF

カラム:RH-12ms(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:2 μL

昇温条件:130℃(1 分保持)-15℃/分-210℃-3℃/分-310℃ (10 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.0 mL/分)

③Co-PCBs

カラム:RH-12ms(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:1 μL

昇温条件:130℃(1 分保持)-15℃/分-200℃-

1℃/分-220℃-2℃/分-250℃-3℃/分-270℃-15℃/分-310℃(5 分保持)
キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.0 mL/分)

2)MS/MS 条件
イオン化法: EI; イオン化電圧: 50 eV; エミッション電流: 20 μA; イオン源温度: 320℃; 測定モード: SRM

設定した PCDD/PCDFs 測定及び Co-PCBs 測定の SRM 条件を表 1 に示した。

3-3. 検量線の作成

相対感度係数法により検量線を作成した。検量線用標準溶液(6 濃度)に対して 3 回測定を実施し、計 18 点の測定データを得た。検量線用標準溶液の組成と濃度を表 2 に示した。各測定データについて、各分析対象物質とそれに対応するクリーンアップスパイクとの相対感度係数(RRF)、及びクリーンアップスパイクとそれに対応するシリンジスパイクの相対感度係数(RRFss)を算出した。検量線作成時の測定データにおける RRF の変動係数は 10%以内、RRFss の変動係数は 20%以内を目標とした。

3-4. 検出下限値及び定量下限値

最低濃度の検量線用標準溶液を 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を検出下限値(LOD)、10σを定量下限値(LOQ)とした。また、操作ブランク試験を 6 回行い、ブランクが認められたダイオキシン類については、ブランクの標準偏差の 3 倍を LOD、10 倍を LOQ として求めた。繰り返し測定から求めた値と比較し、大きい方を本分析法の LOD、又は LOQ とした。

3-5. 試験溶液の測定

試験溶液の測定開始時には 3 濃度の検量線用標準溶液を測定して、RRF 及び RRFss を求めた。これらの値が、検量線作成時の RRF 及び RRFss と比較し、RRF については±10%以内、RRFss については±20%以内であることを確認した。検量線作成時の RRF 及び RRFss を用いて、試験溶液に含まれるダイオキシン類を定量した。試験溶液より得られた分析対象物質と内標準物質の面積比が検量線用標準溶液の面積比の範囲外となった場合は、外挿により定量値を算出した。

4. 高分解能 GC/MS によるダイオキシン類分析

前処理と高分解能 GC/MS 測定条件は、「(1-1)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」に従った。

C. 研究結果及び考察

1. GC-MS/MS 測定条件の改良

令和 5 年度の検討において、GC-MS/MS によるダイオキシン類分析の性能評価は良好であったものの、検討した分析条件ではマトリックスが多いと思われる食品試料を測定した後に大幅な感度低下が観察されることがあった [6]。DB-5ms UI カラムを用いた PCDD/PCDFs 測定においては、食品試料を測定後に分析対象ピークのイオン強度が半分以下に低下する現象が生じた。PCDD/PCDFs 測定に使用する GC カラムを BPX-DXN に変更した結果、DB-5ms UI カラムと比較し大幅なイオン強度の低下が認められなかった。一例として、食品試料の測定前後の、2,3,7,8-TeCDD と 1,2,3,7,8-PeCDD の SRM クロマトグラムを示した(図 1)。マトリックスが多い試料を含む約 15 試料を測定した後でも、ピークの高さと面積はほとんど変化していなかった。そこで、本年度は DB-5ms UI カラムの代わりに、BPX-DXN を使用してダイオキシン類分析の性能評価を実施した。

2. GC-MS/MS 分析法の性能評価

改良した測定条件を反映した GC-MS/MS 分析法の性能評価を以下の通り実施した。

2-1. 検量線の作成(RRF 及び RRFss の算出)

検量線用標準溶液(6 濃度)を測定し RRF 及び RRFss を求めた(表 3)。PCDD/PCDFs の RRF は 0.614～1.150(変動係数は 3.3～7.5%)、RRFss は 0.490～2.382(変動係数は 2.5～9.6%)であった。Co-PCBs の RRF は 0.909～1.038(変動係数は 1.7～8.0、RRFss は 0.433～0.825(変動係数は 1.9～6.4%)であった。ガイドラインでは検量線作成時の RRF の変動係数は 10%以内が目標とされている。今回得られた RRF の変動係数は 8.0%以下であることから、ガイドラインの目標値を満たしていた。

2-2. ダイオキシン類分析の LODs 及び LOQs

最も濃度が低い検量線用標準溶液(Conc.1)の繰り返し測定(10 回)の標準偏差より推定した GC-MS/MS 分析の試料測定時(50 g 使用時)の LODs 及び LOQs を表 4 に示した。操作ブランクが認められた異性体は、PCB 77 及び PCB 118 であったが、操作ブランク値の標準偏差より推定した LODs 及び LOQs は、検量線用標準液の繰り返し測定の標準偏差より推定した LODs 及び LOQs よりも小さい値となった。従って全てのダイオキシン類異性体の LODs 及び LOQs は検量線用標準液の繰り返し測定の標準偏差より推定した値となった。PCDD/PCDFs の LODs は 0.002～0.012 pg/g、LOQs は 0.005～0.042 pg/g であった。Co-PCBs の LODs は 0.002～0.11 pg/g、LOQs は 0.007～0.38 pg/g であった。SRM クロマトグラム(定量イオン)の一例を図 2 及び図 3 に示した。

ガイドラインでは、LODs や操作ブランク値等の許容性を判断する基準として、目標検出下限が示されている。GC-MS/MS 分析の試料測定時の LODs を目標検出下限と比較すると、全てのダイオキシン類において目標検出下限を満たしていた。また LOQs についても目標検出下限を満たしており、本分析法はガイドラインに示された目標検出下限までのダイオキシン類を定量できると考えられた。

2-3. 畜水産物における GC-MS/MS と高分解能 GC/MS のダイオキシン類分析値の比較

ボラ、牛肉、及び鶏卵試料を用いて GC-MS/MS と高分解能 GC/MS(従来法)によるダイオキシン類の分析値を比較した(表 5、表 6、及び表 7)。各食品試料についてそれぞれ 5 試行の分析を行い、平均濃度と相対標準偏差(RSD)について比較した。

GC-MS/MS の各異性体濃度の平均値は、高分解能 GC/MS に対して、ボラで 90～110%、牛肉で 91～108%、及び鶏卵で 90～106%であり良く一致していた。また、RSD もボラで 11.6%以内、牛肉で 8.0%以内、鶏卵で 8.8%以内であり、高分解能 GC/MS(ボラで 17.2%以内、牛肉で 12.5%以内、鶏卵で 15.1%以内)と比較して大きな値となることはなかった。各食品の SRM クロマトグラム(定量イオン)の一例を図 4、図 5、図 6、図 7、図 8 及び図 9 に示した。いずれの食品試料においても、1,2,3,4,7,8－HxCDD や PCB 123 等の近傍に分析対象物以外の比較的大きなピークが認められ、注意を要したが、これらのダイオキシン類の定量は可能であった。LOQs 以上となった各ダイオキシン類の定量イオンと定性イオンのピーク面積比は検量線用標準溶液のピーク面積比の概ね±25%以内であった。

2-4. 畜水産物に対するダイオキシン類の添加回収試験

マグロ、牛肉、及び鶏卵試料にダイオキシン類を添加した試料を作製し、それらを用いてダイオキシン類の分析性能(真度及び併行精度)を評価した。既知濃度のダイオキシン類を添加し、5 併行で分析した際の真度及び併行精度を表 8 に示した。なお、未添加試料に LOQs を超えるダイオキシン類が認められた場合は、添加試料の分析値からそれらの分析値を差し引いて真度及び併行精度を推定した。これらの 3 種の食品における PCDD/PCDFs の真度は 88～106%、併行精度は 9.1%以下であった。また、Co-PCBs の真度は 89～105%、併行精度は 2.7%以下であった。い

ずれも良好な真度と併行精度であった。また、GC-MS/MS 分析の SRM クロマトグラムに分析対象となるダイオキシン類の定量を妨害する夾雑ピークは認められなかった(データ未掲載)。

2-5. 認証標準試料の分析

GC-MS/MS を用いたダイオキシン類分析の信頼性を検証するため、ダイオキシン類濃度が付与されている認証標準試料(WMF-01)を分析した(表 9)。認証値が付与されているダイオキシン類については、全て LOQs 以上の分析値が得られ、認証値の平均値±2SD の範囲内であった。また、LOQs 以上となったその他のダイオキシン類の分析値についても、参考値の平均値±2SD の範囲内であった。GC-MS/MS 分析の SRM クロマトグラムに分析対象となるダイオキシン類の定量を妨害する夾雑ピークは認められず(図 10 及び図 11)、LOQs 以上となった各ダイオキシン類の定量イオンと定性イオンのピーク面積比は検量線用標準溶液のピーク面積比の概ね±25%以内であった。

D. 結論

昨年度の GC-MS/MS 測定条件を改良した上で、GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の性能評価を実施した。PCDD/PCDFs 測定に使用する GC カラムを、DB-5ms UI カラムから BPX-DXN へ変更することで、マトリックスが多いと思われる食品試料を測定した後でも大幅な感度低下が認められなくなった。ボラ、牛肉、及び鶏卵を用いて GC-MS/MS と高分解能 GC/MS によるダイオキシン類の分析結果を比較した結果、両者の分析値は良く一致した。また、マグロ、牛肉、および鶏卵を対象にダイオキシン類の添加回収試験を実施した結果、良好な真度と併行精度が得られた。さらに、認証標準試料を GC-MS/MS により分析した結果、LOQs 以上となった異性体は認証値(又は参考値)の平均値±2SD の範囲内であった。以上より、本分析法は畜水産物中のダイオキシン類を良好に測定可能であると考えられる。

E. 参考文献

1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知“食品中のダイオキシン類測定方法暫定ガイドライン”平成 20 年 2 月 28 日, 食安監発第 0228003 号
2) COMMISSION REGULATION (EU) No 589/2014 of 2 June 2014, laying down methods of sampling and analysis for the control of levels of dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in certain foodstuffs and repealing Regulation (EU) No 252/2012
3) Franchina FA, Lazzari E, Scholl G, Focant J-F. : Assessment of a New GC-MS/MS System for the Confirmatory Measurement of PCDD/Fs and (N)DL-PCBs in Food under EU Regulation. Foods, 8(8), 302 (2019)
4) Lyu B, Zhang X, Li J, Zhang L, Zhong, Y, Wu Y. : Determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and furans in food samples by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS) and comparison with gas chromatography-high resolution mass spectrometry (GC-HRMS). Journal of Food Composition and Analysis, 115, 104947 (2023)
5) 令和 4 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金研究報告書「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のための研究」分担研究報告書(有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究)
6) 令和 5 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金研究報告書「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のための研究」分担研究報告書(有害

物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究）

F.研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1）堤 智昭, 足立利華, 張 天斉, 高附 巧, 鍋師裕美：GC-MS/MS による畜水産物中のダイオキシン類分析の検討. 第 32 回環境化学討論会(2024.7).

表 1 ダイオキシン類測定の SRM 条件

表1-1）PCDD/PCDFs

化合物			定量イオン		定性イオン	
			SRM transition (*m/z*)	CE (eV)	SRM transition (*m/z*)	CE (eV)
分析対象物質	PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	319.9 > 256.9	15	321.9 > 258.9	15
		1,2,3,7,8-PeCDD	355.9 > 292.9	15	353.9 > 290.9	15
		1,2,3,4,7,8-HxCDD 1,2,3,6,7,8-HxCDD 1,2,3,7,8,9-HxCDD	389.8 > 326.9	15	391.8 > 328.8	15
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	423.8 > 360.8	15	425.8 > 362.8	15
		OCDD	457.7 > 394.8	15	459.7 > 396.8	15
	PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	303.9 > 240.9	25	305.9 > 242.9	25
		1,2,3,7,8-PeCDF 2,3,4,7,8-PeCDF	339.9 > 276.9	25	337.9 > 274.9	25
		1,2,3,4,7,8-HxCDF 1,2,3,6,7,8-HxCDF 1,2,3,7,8,9-HxCDF 2,3,4,6,7,8-HxCDF	373.8 > 310.9 (371.8 > 308.9)*	25	375.8 > 312.9 (373.8 > 310.9)	25
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	407.8 > 344.8	25	409.8 > 346.8	25
		OCDF	441.7 > 378.8	25	443.7 > 380.8	25
内標準物質 （クリーンアップ スパイク）	PCDDs	$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDD	331.9 > 268.0	15	333.9 > 270.0	15
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDD	367.9 > 303.9	15	365.9 > 301.9	15
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDD $^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDD $^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDD	401.9 > 337.9	15	403.9 > 339.9	15
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	435.8 > 371.8	15	437.8 > 373.8	15
		$^{13}C_{12}$-OCDD	469.8 > 405.8	15	471.8 > 407.8	15
	PCDFs	$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDF	315.9 > 252.0	25	317.9 > 254.0	25
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDF $^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-PeCDF	351.9 > 287.9	25	349.9 > 285.9	25
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDF $^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDF $^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDF $^{13}C_{12}$-2,3,4,6,7,8-HxCDF	385.9 > 321.9	25	387.9 > 323.9	25
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF $^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	419.8 > 355.9	25	421.8 > 357.9	25
		$^{13}C_{12}$-OCDF	453.8 > 389.8	25	455.8 > 391.8	25
内標準物質 （シリンジスパイク）		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4-TeCDD	331.9 > 268.0	15	333.9 > 270.0	15

＊ RH-12ms測定時のモニターイオン

表1-2) Co-PCBs

化合物			定量イオン		定性イオン	
			SRM transition (*m/z*)	CE (eV)	SRM transition (*m/z*)	CE (eV)
分析対象物質	ノンオルトPCBs	3,3',4,4'-TCB (#77)	289.9 > 219.9	22	291.9 > 221.9	22
		3,4,4',5-TCB (#81)				
		3,3',4,4',5-PeCB (#126)	323.9 > 253.9	22	325.9 > 255.9	22
		3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	359.9 > 289.9	25	357.9 > 287.9	25
	モノオルトPCBs	2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	323.9 > 253.9	22	325.9 > 255.9	22
		2,3,4,4',5-PeCB (#114)				
		2,3',4,4',5-PeCB (#118)				
		2',3,4,4',5-PeCB (#123)				
		2,3,3',4,4'5-HxCB (#156)	359.9 > 289.9	25	357.9 > 287.9	25
		2,3,3',4,4'5'-HxCB (#157)				
		2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)				
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	393.9 > 323.9	28	391.9 > 321.9	28
内標準物質（クリーンアップスパイク）	ノンオルトPCBs	$^{13}C_{12}$-3,3',4,4'-TCB (#77)	301.9 > 231.9	22	303.9 > 233.9	22
		$^{13}C_{12}$-3,4,4',5-TCB (#81)				
		$^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5-PeCB (#126)	335.9 > 265.9	22	337.9 > 267.9	22
		$^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	371.9 > 301.9	25	369.9 > 299.9	25
	モノオルトPCBs	$^{13}C_{12}$-2,3,3'4,4'-PeCB (#105)	335.9 > 265.9	22	337.9 > 267.9	22
		$^{13}C_{12}$-2,3,4,4',5-PeCB (#114)				
		$^{13}C_{12}$-2,3',4,4',5-PeCB (#118)				
		$^{13}C_{12}$-2',3,4,4',5-PeCB (#123)				
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	371.9 > 301.9	25	369.9 > 299.9	25
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)				
		$^{13}C_{12}$-2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)				
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	405.9 > 335.9	28	403.9 > 333.9	28
内標準物質（シリンジスパイク）		$^{13}C_{12}$-3,3',4,5'-TCB (#79)	301.9 > 231.9	22	303.9 > 233.9	22

表 2 検量線用標準溶液の組成と濃度

表2-1) PCDD/PCDFs

化合物			濃度 (ng/mL)					
			Conc.1	Conc.2	Conc.3	Conc.4	Conc.5	Conc.6
分析対象物質	PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	0.02	0.05	0.2	1	5	25
		1,2,3,7,8-PeCDD	0.02	0.05	0.2	1	5	25
		1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.04	0.1	0.4	2	10	50
		1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.04	0.1	0.4	2	10	50
		1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.04	0.1	0.4	2	10	50
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.04	0.1	0.4	2	10	50
		OCDD	0.1	0.25	1	5	25	125
	PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	0.02	0.05	0.2	1	5	25
		1,2,3,7,8-PeCDF	0.02	0.05	0.2	1	5	25
		2,3,4,7,8-PeCDF	0.02	0.05	0.2	1	5	25
		1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.04	0.1	0.4	2	10	50
		1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.04	0.1	0.4	2	10	50
		1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.04	0.1	0.4	2	10	50
		2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.04	0.1	0.4	2	10	50
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.04	0.1	0.4	2	10	50
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.04	0.1	0.4	2	10	50
		OCDF	0.1	0.25	1	5	25	125
内標準物質 (クリーンアップスパイク)	PCDDs	$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDD	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDD	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDD	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDD	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDD	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-OCDD	4	4	4	4	4	4
	PCDFs	$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDF	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDF	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-PeCDF	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDF	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDF	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDF	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-2,3,4,6,7,8-HxCDF	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-OCDF	4	4	4	4	4	4
内標準物質 (シリジンスパイク)		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4-TeCDD	2	2	2	2	2	2

表2-2) Co-PCBs

化合物			濃度 (ng/mL)					
			Conc.1	Conc.2	Conc.3	Conc.4	Conc.5	Conc.6
分析対象物質	ノンオルトPCBs	3,3',4,4'-TeCB (#77)	0.05	0.2	1	10	50	200
		3,4,4',5-TeCB (#81)	0.05	0.2	1	10	50	200
		3,3',4,4',5-PeCB (#126)	0.05	0.2	1	10	50	200
		3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	0.05	0.2	1	10	50	200
	モノオルトPCBs	2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3,4,4',5-PeCB (#114)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3',4,4',5-PeCB (#118)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2',3,4,4',5-PeCB (#123)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3,3',4,4'5-HxCB (#156)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3,3',4,4'5'-HxCB (#157)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	0.05	0.2	1	10	50	200
内標準物質 (クリーンアップスパイク)	ノンオルトPCBs	$^{13}C_{12}$-3,3',4,4'-TeCB (#77)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-3,4,4',5-TeCB (#81)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5-PeCB (#126)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	5	5	5	5	5	5
	モノオルトPCBs	$^{13}C_{12}$-2,3,3'4,4'-PeCB (#105)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3,4,4',5-PeCB (#114)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3',4,4',5-PeCB (#118)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2',3,4,4',5-PeCB (#123)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	5	5	5	5	5	5
内標準物質 (シリジンスパイク)		$^{13}C_{12}$-3,3',4,5'-TeCB (#79)	5	5	5	5	5	5

表 3 検量線用標準溶液の RRF 及び RRFss

表3-1）PCDD/PCDFs

PCDD/PCDFs		RRF 平均値	RRF変動係数 (%)	RRFss 平均値	RRFss変動係数 (%)
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	1.082	5.2	1.579	2.9
	1,2,3,7,8-PeCDD	1.036	6.8	1.158	4.1
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.886	7.5	1.002	5.5
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.909	5.4	1.064	5.8
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.941	4.8	0.965	6.2
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1.144	3.3	0.800	7.1
	OCDD	1.074	3.4	0.490	9.6
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	1.011	3.8	2.382	4.0
	1,2,3,7,8-PeCDF	1.103	5.3	1.697	2.5
	2,3,4,7,8-PeCDF [1)]	1.067	3.7	1.741	5.0
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.048	3.8	1.379	5.1
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.022	5.1	1.414	5.4
	1,2,3,7,8,9-HxCDF [1)]	0.614	3.7	1.209	6.8
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.980	6.7	1.431	7.1
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.150	6.4	1.173	5.9
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.104	6.9	0.873	8.2
	OCDF	1.008	3.5	0.659	8.9

1) RH-12ms測定データ

表3-2) Co-PCBs

Co-PCBs		RRF 平均値	RRF変動係数 (%)	RRFss 平均値	RRFss変動係数 (%)
ノンオルトPCBs	3,3',4,4'-TeCB(#77)	1.038	4.9	0.771	3.3
	3,4,4',5-TeCB(#81)	1.025	3.9	0.825	2.8
	3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.970	3.9	0.534	4.6
	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.955	4.8	0.477	6.4
モノオルトPCBs	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	0.954	4.1	0.606	1.9
	2,3,4,4',5-PeCB(#114)	0.943	2.1	0.631	3.6
	2,3',4,4',5-PeCB(#118)	0.998	8.0	0.636	4.1
	2',3,4,4',5-PeCB(#123)	0.909	1.7	0.636	3.4
	2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	0.930	3.7	0.508	3.5
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	0.947	4.0	0.527	3.7
	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	1.011	4.3	0.500	3.4
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	1.004	3.0	0.433	5.6

表 4 試料測定時の LODs 及び LOQs

表4-1）PCDD/PCDFs

PCDD/PCDFs		LODs[1)] (pg/g)	LOQs[1)] (pg/g)	目標検出下限[2)] (pg/g)
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	0.002	0.006	0.01
	1,2,3,7,8-PeCDD	0.002	0.007	0.01
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.005	0.015	0.02
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.005	0.018	0.02
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.004	0.012	0.02
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.004	0.012	0.02
	OCDD	0.012	0.042	0.05
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	0.002	0.006	0.01
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.002	0.007	0.01
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.002	0.005	0.01
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.003	0.011	0.02
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.003	0.008	0.02
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.004	0.014	0.02
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.004	0.013	0.02
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.003	0.010	0.02
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.004	0.013	0.02
	OCDF	0.008	0.027	0.05

1)食品試料50 g使用時
2)食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン（平成20年2月）

表4-2) Co-PCBs

Co-PCBs		LODs[1)] (pg/g)	LOQs[1)] (pg/g)	目標検出下限[2)] (pg/g)
ノンオルトPCBs	3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.004	0.012	0.1
	3,4,4',5-TeCB(#81)	0.002	0.007	0.1
	3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.004	0.012	0.1
	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.004	0.014	0.1
モノオルトPCBs	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	0.08	0.25	1
	2,3,4,4',5-PeCB(#114)	0.10	0.32	1
	2,3',4,4',5-PeCB(#118)	0.08	0.27	1
	2',3,4,4',5-PeCB(#123)	0.05	0.17	1
	2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	0.11	0.38	1
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	0.06	0.19	1
	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	0.07	0.23	1
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	0.06	0.20	1

1)食品試料50 g使用時
2)食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン（平成20年2月）

表 5 GC-MS/MS と高分解能 GC/MS のダイオキシン類分析値の比較(ボラ)

ダイオキシン類		ボラ（n = 5）				
		GC-MS/MS(A)		高分解能GC/MS(B)		比率, %
		Mean±SD, pg/g	RSD, %	Mean±SD, pg/g	RSD, %	(A/B)
PCDDs	2378-TeCDD	0.25 ± 0.021	8.2	0.25 ± 0.023	9.2	101
	12378-PeCDD	0.44 ± 0.031	7.0	0.41 ± 0.022	5.4	107
	123478-HxCDD	0.088 ± 0.0072	8.2	0.093 ± 0.0087	9.4	94
	123678-HxCDD	0.20 ± 0.018	8.9	0.21 ± 0.021	10.1	97
	123789-HxCDD	0.054 ± 0.0052	9.6	0.052 ± 0.0044	8.5	104
	1234678-HpCDD	0.16 ± 0.011	7.0	0.16 ± 0.0179	11.3	101
	OCDD	0.24 ± 0.018	7.3	0.24 ± 0.016	6.9	102
PCDFs	2378-TeCDF	2.0 ± 0.136	6.8	1.9 ± 0.070	3.7	106
	12378-PeCDF	0.21 ± 0.013	6.0	0.19 ± 0.020	10.6	109
	23478-PeCDF	0.92 ± 0.049	5.4	0.86 ± 0.063	7.3	106
	123478-HxCDF	0.088 ± 0.0077	8.8	0.085 ± 0.0146	17.2	103
	123678-HxCDF	0.073 ± 0.0085	11.6	0.069 ± 0.0080	11.7	107
	123789-HxCDF	nd [1)]	–	nd	–	–
	234678-HxCDF	0.12 ± 0.011	9.2	0.11 ± 0.0088	7.9	110
	1234678-HpCDF	0.045 ± 0.0046	10.1	0.044 ± 0.0053	12.0	103
	1234789-HpCDF	nd	–	nd	–	–
	OCDF	nd	–	nd	–	–
ノンオルトPCBs	33'44'-TeCB (#77)	167 ± 9.0	5.4	172 ± 6.2	3.6	97
	344'5-TeCB (#81)	15.6 ± 0.54	3.5	16 ± 0.85	5.3	99
	33'44'5-PeCB (#126)	24 ± 0.32	1.3	25 ± 0.85	3.4	97
	33'44'55'-HxCB (#169)	1.8 ± 0.063	3.6	1.7 ± 0.10	6.0	104
モノオルトPCBs	233'44'-PeCB (#105)	2480 ± 88	3.6	2594 ± 89	3.4	96
	2344'5-PeCB (#114)	158 ± 6.8	4.3	168 ± 5.6	3.3	94
	23'44'5-PeCB (#118)	8087 ± 273	3.4	8451 ± 234	2.8	96
	2'344'5-PeCB (#123)	148 ± 6.2	4.2	151 ± 8.2	5.4	98
	233'44'5-HxCB (#156)	690 ± 18	2.6	764 ± 14	1.8	90
	233'44'5'-HxCB (#157)	185 ± 4.7	2.5	196 ± 7.1	3.6	95
	23'44'55'-HxCB (#167)	373 ± 10	2.7	397 ± 9.1	2.3	94
	233'44'55'-HpCB (#189)	52 ± 1.2	2.3	54 ± 1.7	3.2	96

1) nd: not detected

表 6 GC-MS/MS と高分解能 GC/MS のダイオキシン類分析値の比較(牛肉)

ダイオキシン類		牛肉 (n = 5)				
		GC-MS/MS(A)		高分解能GC/MS(B)		比率, %
		Mean±SD, pg/g	RSD, %	Mean±SD, pg/g	RSD, %	(A/B)
PCDDs	2378-TeCDD	0.030 ± 0.0016	5.3	0.032 ± 0.0026	8.3	94
	12378-PeCDD	0.21 ± 0.015	7.1	0.20 ± 0.0093	4.7	107
	123478-HxCDD	0.33 ± 0.016	4.8	0.35 ± 0.017	4.8	95
	123678-HxCDD	2.4 ± 0.13	5.4	2.2 ± 0.056	2.5	107
	123789-HxCDD	0.40 ± 0.016	4.0	0.42 ± 0.011	2.6	94
	1234678-HpCDD	9.4 ± 0.43	4.6	9.8 ± 0.20	2.1	96
	OCDD	17 ± 0.67	4.0	16 ± 0.51	3.2	105
PCDFs	2378-TeCDF	nd [1)]	–	tr [2)]	–	–
	12378-PeCDF	nd	–	nd	–	–
	23478-PeCDF	0.087 ± 0.0048	5.5	0.083 ± 0.0037	4.5	105
	123478-HxCDF	0.49 ± 0.0054	1.1	0.49 ± 0.026	5.3	101
	123678-HxCDF	0.19 ± 0.0048	2.6	0.18 ± 0.0036	2.0	104
	123789-HxCDF	tr	–	nd	–	–
	234678-HxCDF	0.18 ± 0.0089	5.0	0.18 ± 0.011	6.0	100
	1234678-HpCDF	1.7 ± 0.067	3.9	1.8 ± 0.061	3.5	96
	1234789-HpCDF	0.083 ± 0.0056	6.8	0.087 ± 0.0064	7.3	96
	OCDF	0.54 ± 0.021	4.0	0.55 ± 0.011	2.0	98
ノンオルトPCBs	33'44'-TeCB (#77)	0.34 ± 0.027	8.0	0.34 ± 0.042	12.5	100
	344'5-TeCB (#81)	0.041 ± 0.0011	2.7	0.042 ± 0.0027	6.3	97
	33'44'5-PeCB (#126)	0.37 ± 0.0094	2.5	0.38 ± 0.023	6.0	97
	33'44'55'-HxCB (#169)	0.10 ± 0.0021	2.1	0.11 ± 0.0045	4.1	91
モノオルトPCBs	233'44'-PeCB (#105)	12 ± 0.22	1.8	13 ± 0.57	4.5	99
	2344'5-PeCB (#114)	2.3 ± 0.044	1.9	2.4 ± 0.22	9.3	95
	23'44'5-PeCB (#118)	79 ± 1.4	1.7	84 ± 4.3	5.1	94
	2'344'5-PeCB (#123)	1.0 ± 0.032	3.1	1.1 ± 0.072	6.7	97
	233'44'5-HxCB (#156)	14 ± 0.17	1.3	14 ± 0.66	4.8	100
	233'44'5'-HxCB (#157)	3.6 ± 0.083	2.3	3.3 ± 0.30	9.1	108
	23'44'55'-HxCB (#167)	4.7 ± 0.10	2.2	4.5 ± 0.27	5.9	104
	233'44'55'-HpCB (#189)	0.65 ± 0.014	2.1	0.67 ± 0.05	7.5	98

1) tr: trace (LOD≦tr＜LOQ)
2) nd: not detected

表 7 GC-MS/MS と高分解能 GC/MS のダイオキシン類分析値の比較(鶏卵)

ダイオキシン類		鶏卵 (n = 5)				
		GC-MS/MS(A)		高分解能GC/MS(B)		比率, %
		Mean±SD, pg/g	RSD, %	Mean±SD, pg/g	RSD, %	(A/B)
PCDDs	2378-TeCDD	0.023 ± 0.0018	8.0	0.024 ± 0.0019	7.7	93
	12378-PeCDD	0.094 ± 0.0050	5.3	0.088 ± 0.0079	8.9	106
	123478-HxCDD	0.029 ± 0.0015	5.2	0.031 ± 0.0046	15.1	95
	123678-HxCDD	0.21 ± 0.0079	3.7	0.22 ± 0.014	6.4	98
	123789-HxCDD	0.056 ± 0.0012	2.1	0.060 ± 0.0033	5.5	93
	1234678-HpCDD	0.18 ± 0.0087	4.8	0.18 ± 0.007	3.7	99
	OCDD	0.88 ± 0.048	5.5	0.88 ± 0.020	2.2	99
PCDFs	2378-TeCDF	0.085 ± 0.0028	3.3	0.088 ± 0.0073	8.4	97
	12378-PeCDF	0.041 ± 0.0028	6.7	0.041 ± 0.0017	4.1	100
	23478-PeCDF	0.088 ± 0.0065	7.4	0.085 ± 0.0062	7.3	104
	123478-HxCDF	0.026 ± 0.00086	4.1	0.028 ± 0.0042	14.9	94
	123678-HxCDF	0.027 ± 0.00083	3.9	0.025 ± 0.0023	9.2	105
	123789-HxCDF	nd [1]	–	nd	–	–
	234678-HxCDF	0.026 ± 0.0018	8.8	0.028 ± 0.0023	8.1	93
	1234678-HpCDF	0.026 ± 0.0015	7.0	0.028 ± 0.0017	6.0	94
	1234789-HpCDF	tr [2]		tr		
	OCDF	tr		tr		
ノンオルトPCBs	33'44'-TeCB (#77)	1.5 ± 0.047	3.0	1.7 ± 0.062	3.6	90
	344'5-TeCB (#81)	0.16 ± 0.0043	2.6	0.17 ± 0.013	7.7	96
	33'44'5-PeCB (#126)	1.1 ± 0.041	3.6	1.3 ± 0.065	5.2	91
	33'44'55'-HxCB (#169)	0.39 ± 0.013	3.3	0.42 ± 0.027	6.5	92
モノオルトPCBs	233'44'-PeCB (#105)	24 ± 1.0	4.2	25 ± 0.86	3.4	97
	2344'5-PeCB (#114)	2.2 ± 0.12	5.6	2.3 ± 0.14	6.2	97
	23'44'5-PeCB (#118)	78 ± 2.0	2.6	87 ± 3.3	3.9	90
	2'344'5-PeCB (#123)	1.7 ± 0.10	5.9	1.9 ± 0.15	7.9	91
	233'44'5-HxCB (#156)	11 ± 0.48	4.3	12 ± 0.52	4.5	97
	233'44'5'-HxCB (#157)	3.4 ± 0.063	1.8	3.3 ± 0.26	7.9	104
	23'44'55'-HxCB (#167)	7.0 ± 0.23	3.3	7.1 ± 0.34	4.8	100
	233'44'55'-HpCB (#189)	1.9 ± 0.023	1.2	2.1 ± 0.15	7.4	93

1) nd: not detected

2) tr: trace (LOD≦tr＜LOQ)

表 8 添加回収試験結果

ダイオキシン類		マグロ（n = 5）			牛肉（n = 5）			鶏卵 （n = 5）		
		添加濃度	真度	併行精度	添加濃度	真度	併行精度	添加濃度	真度	併行精度
		pg/g	%	RSD, %	pg/g	%	RSD, %	pg/g	%	RSD, %
PCDDs	2378-TCDD	0.05	90	8.0	0.1	93	5.4	0.1	93	5.1
	12378-PeCDD	0.05	95	9.1	0.1	93	7.0	0.1	93	8.3
	123478-HxCDD	0.1	106	7.3	0.2	97	9.5	0.2	92	3.5
	123678-HxCDD	0.1	100	8.1	0.2	94	9.7	0.2	97	4.2
	123789-HxCDD	0.1	102	8.8	0.2	100	6.7	0.2	92	9.1
	1234678-HpCDD	0.1	89	8.5	0.2	100	9.2	0.2	96	4.4
	OCDD	0.25	100	8.5	0.5	95	6.4	0.5	92	6.4
PCDFs	2378-TCDF	0.05	92	8.1	0.1	92	6.8	0.1	93	7.1
	12378-PeCDF	0.05	90	4.7	0.1	96	6.0	0.1	97	6.4
	23478-PeCDF	0.05	96	3.7	0.1	99	6.2	0.1	90	3.2
	123478-HxCDF	0.1	100	6.2	0.2	97	7.9	0.2	88	5.1
	123678-HxCDF	0.1	92	9.2	0.2	96	4.6	0.2	94	8.7
	123789-HxCDF	0.1	96	3.7	0.2	97	7.5	0.2	101	7.8
	234678-HxCDF	0.1	94	2.5	0.2	96	4.6	0.2	95	7.1
	1234678-HpCDF	0.1	95	5.2	0.2	91	6.2	0.2	88	8.7
	1234789-HpCDF	0.1	91	4.2	0.2	88	3.2	0.2	93	8.2
	OCDF	0.25	99	6.8	0.5	93	6.6	0.5	92	8.1
ノンオルトPCBs	33'44'-TCB (#77)	1	97	1.5	1	97	3.4	1	98	2.0
	344'5-TCB (#81)	1	102	1.4	1	103	0.8	1	103	1.1
	33'44'5-PeCB (#126)	1	93	1.5	1	95	0.9	1	95	2.0
	33'44'55'-HxCB (#169)	1	89	2.2	1	90	0.7	1	90	1.4
モノオルトPCBs	233'44'-PeCB (#105)	10	102	1.4	20	100	2.1	20	101	1.9
	2344'5-PeCB (#114)	10	105	1.5	20	104	0.9	20	102	0.7
	23'44'5-PeCB (#118)	10	102	1.5	20	102	1.8	20	99	2.9
	2'344'5-PeCB (#123)	10	105	1.6	20	105	1.9	20	102	1.8
	233'44'5-HxCB (#156)	10	102	0.7	20	99	1.3	20	99	1.2
	233'44'5'-HxCB (#157)	10	100	1.2	20	100	1.9	20	100	1.5
	23'44'55'-HxCB (#167)	10	99	1.3	20	98	1.8	20	98	1.6
	233'44'55'-HpCB (#189)	10	97	2.7	20	95	1.2	20	96	1.4

表 9 認証標準試料(WMF-01)の分析結果

ダイオキシン類	認証値(参考値) pg/g	GC-MS/MS pg/g
2,3,7,8-TeCDD	13.1 ± 4.4	13
1,2,3,7,8-PeCDD	2.72 ± 1.3	2.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.22 ＊[1] ± 0.3	(0.17)[2]
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.88 ± 0.4	0.91
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.27 ＊ ± 0.4	(0.11)
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.59 ＊ ± 0.7	0.20
OCDD	3.91 ＊ ± 6.2	0.60
2,3,7,8-TeCDF	13.1 ± 4.9	14
1,2,3,7,8-PeCDF	1.53 ＊ ± 1.4	0.86
2,3,4,7,8-PeCDF	7.15 ± 2.2	7.0
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.86 ＊ ± 1.0	0.74
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.51 ＊ ± 0.7	0.32
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.25 ＊ ± 0.4	–[3]
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.68 ＊ ± 1.2	0.50
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.01 ＊ ± 1.9	0.13
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.30 ＊ ± 0.5	0.20
OCDF	1.38 ＊ ± 2.1	(0.11)
3,3',4,4'-TeCB(#77)	2,233 ± 720	2,229
3,4,4',5-TeCB(#81)	201 ± 58	200
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	739 ± 260	753
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	76 ± 30	70
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	49,050 ± 14,200	57,638
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	3,523 ± 1,670	3,952
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	130,100 ± 32,500	150,983
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	4,233 ± 2,620	4,171
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	14,890 ± 5,020	16,930
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	3,488 ± 870	4,337
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	9,750 ± 3,090	11,081
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	2,016 ± 611	2,201

1)＊は参考値
2) LODs以上LOQs未満
3) LODs未満

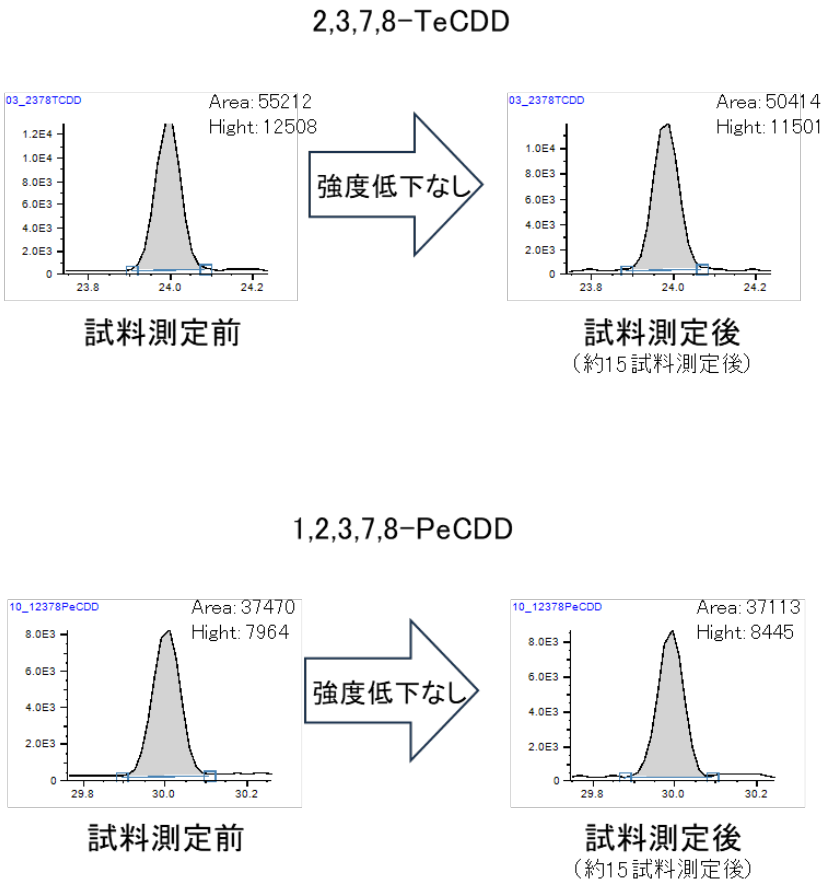
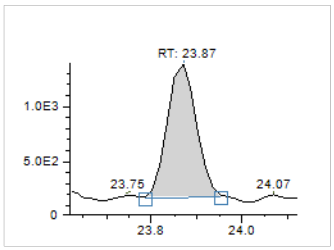
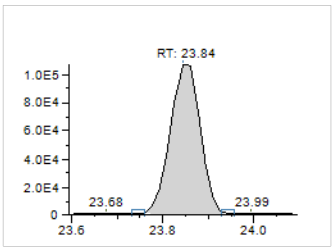


図 1　BPX-DXN における試料測定前後のピーク強度の変化
（2,3,7,8-TeCDD/1,2,3,7,8-PeCDD）

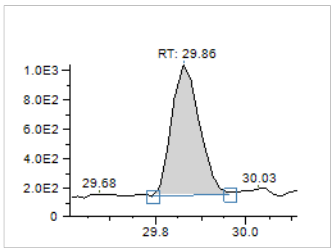
2,3,7,8-TeCDD



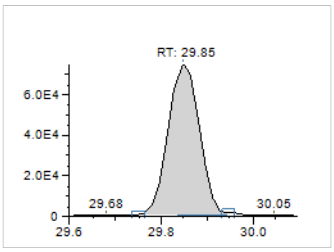
$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDD



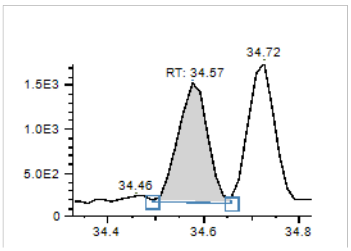
1,2,3,7,8-PeCDD



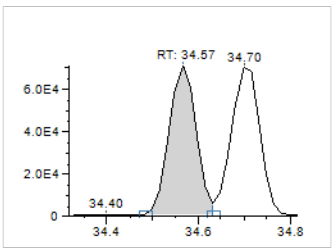
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDD



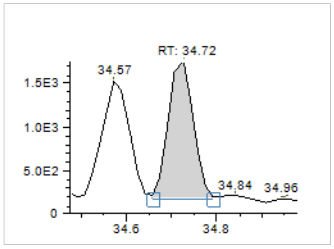
1,2,3,4,7,8-HxCDD



$^{13}C_{12}$-1,2,3,47,8-HxCDD



1,2,3,6,7,8-HxCDD



$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDD

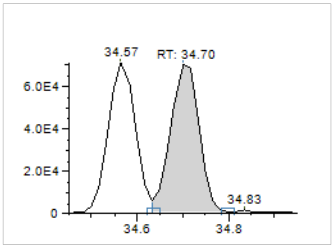
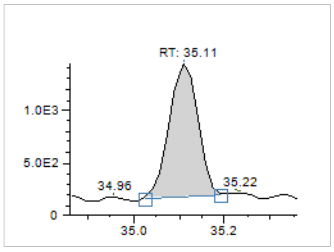
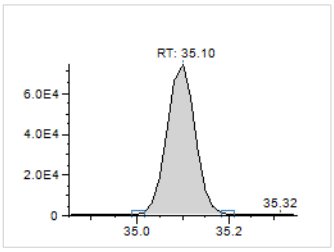


図 2　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）

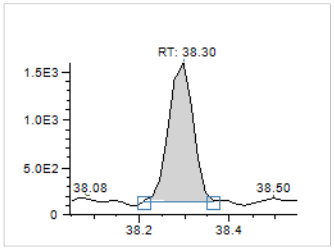
1,2,3,7,8,9-HxCDD



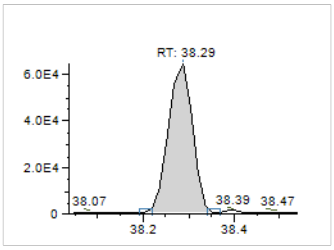
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDD



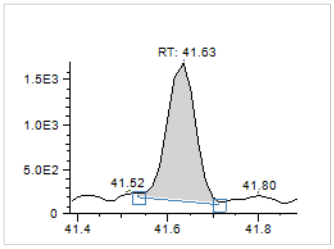
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



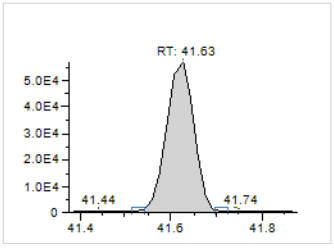
$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



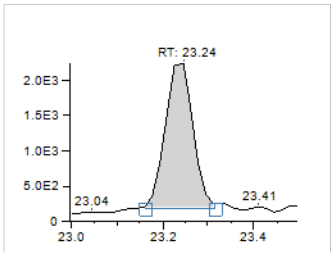
OCDD



$^{13}C_{12}$-OCDD



2,3,7,8-TeCDF



$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDF

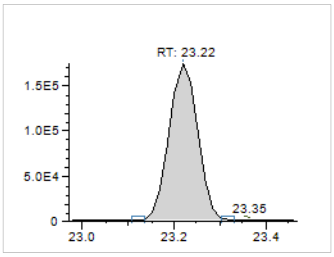
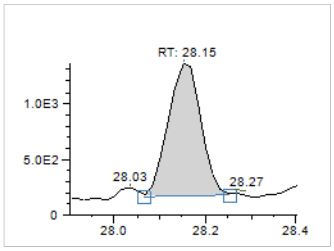
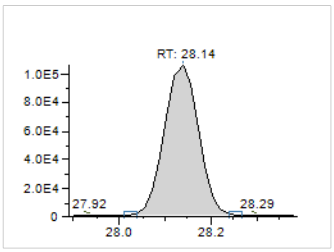


図 2　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

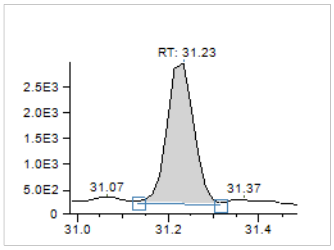
1,2,3,7,8-PeCDF



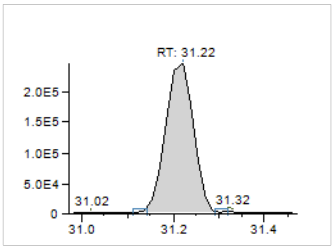
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDF



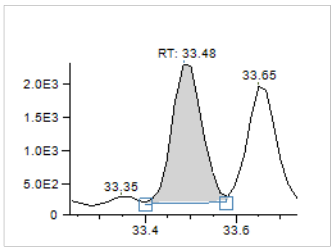
2,3,4,7,8-PeCDF



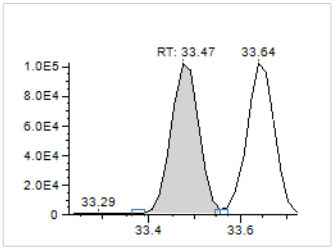
$^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-PeCDF



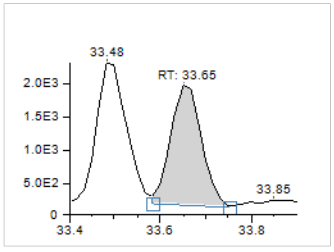
1,2,3,4,7,8-HxCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDF



1,2,3,6,7,8-HxCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDF

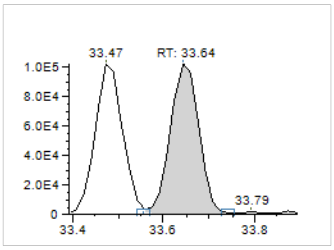
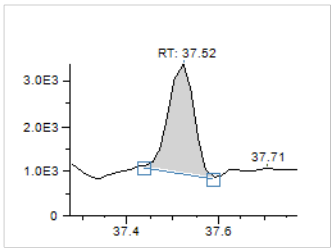
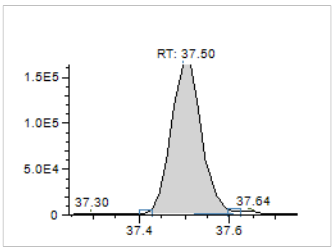


図 2　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

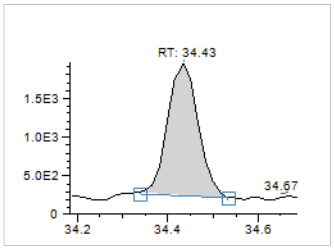
1,2,3,7,8,9-HxCDF



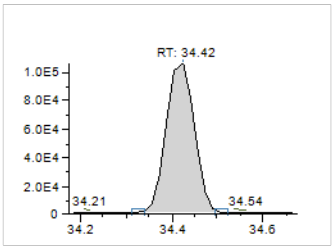
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDF



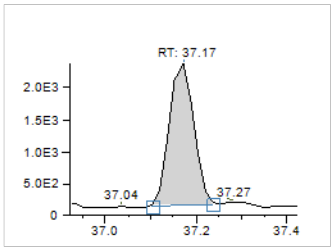
2,3,4,6,7,8-HxCDF



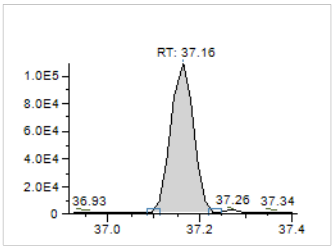
$^{13}C_{12}$-2,3,4,6,7,8-HxCDF



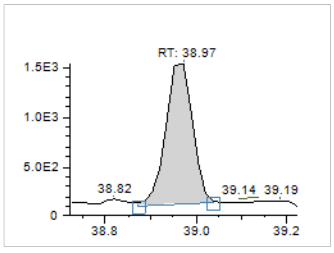
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



1,2,3,4,7,8,9-HpCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF

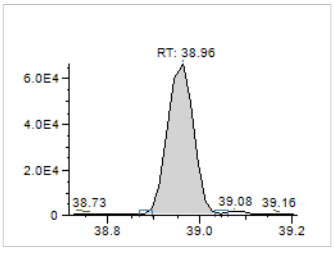
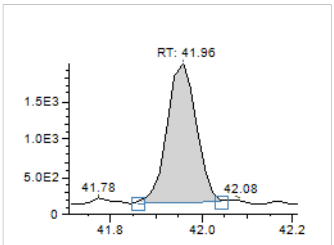


図 2　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

OCDF



$^{13}C_{12}$-OCDF

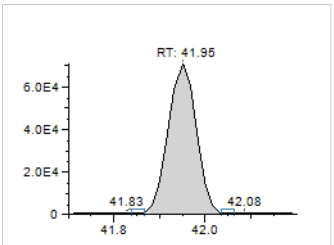
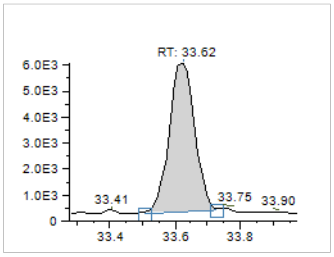
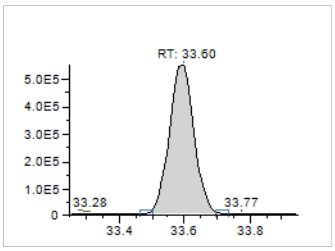


図 2　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

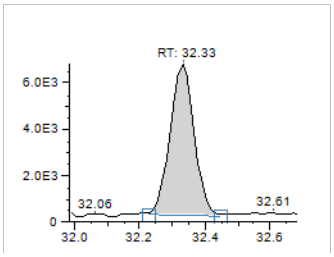
PCB 77



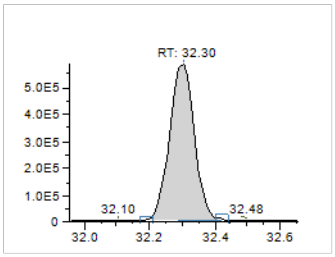
$^{13}C_{12}$–PCB 77



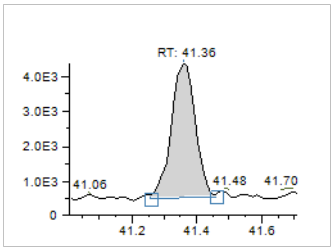
PCB 81



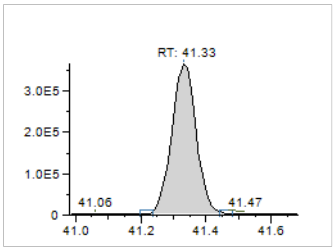
$^{13}C_{12}$–PCB 81



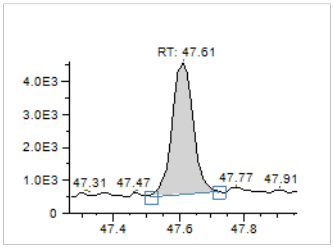
PCB 126



$^{13}C_{12}$–PCB 126



PCB 169



$^{13}C_{12}$–PCB 169

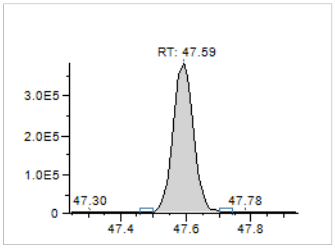
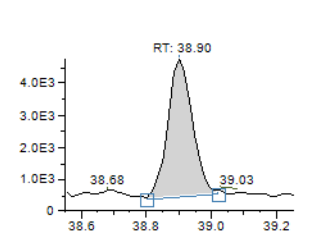
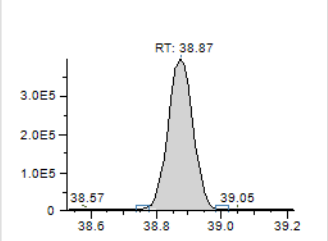


図 3　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

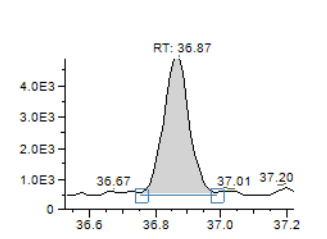
PCB 105



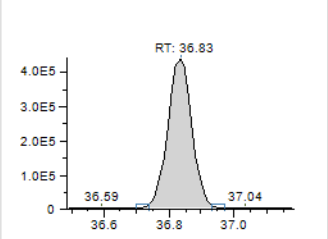
$^{13}C_{12}$–PCB 105



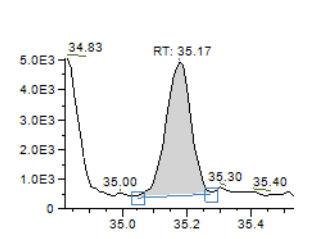
PCB 114



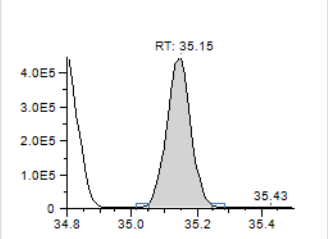
$^{13}C_{12}$–PCB 114



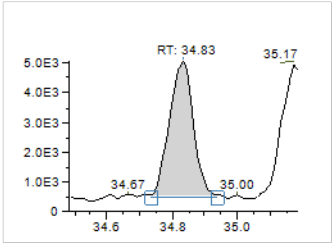
PCB 118



$^{13}C_{12}$–PCB 118



PCB 123



$^{13}C_{12}$–PCB 123

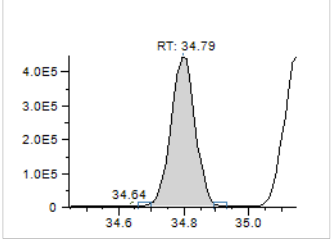
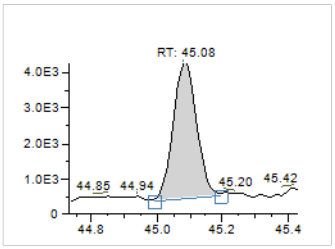
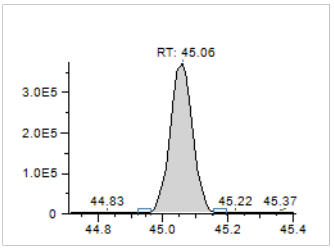


図 3 検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

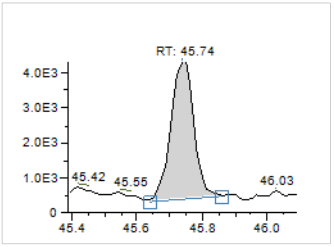
PCB 156



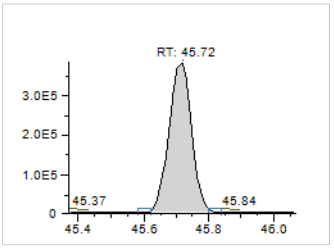
$^{13}C_{12}$–PCB 156



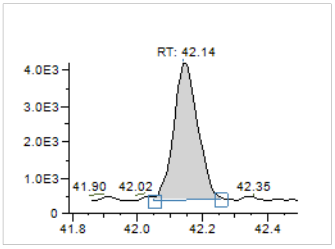
PCB 157



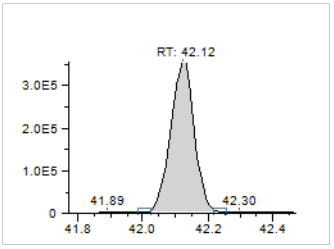
$^{13}C_{12}$–PCB 157



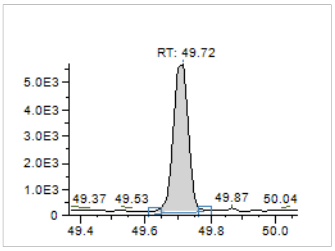
PCB 167



$^{13}C_{12}$–PCB 167



PCB 189



$^{13}C_{12}$–PCB 189

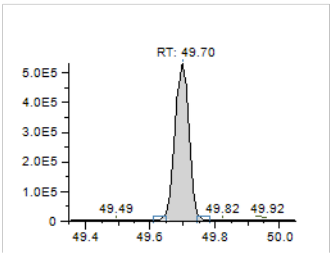
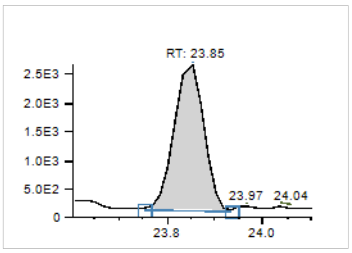
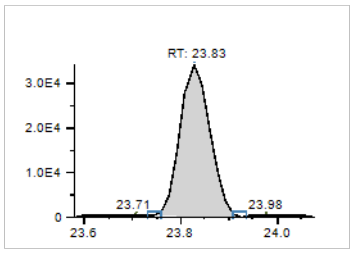


図 3 検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

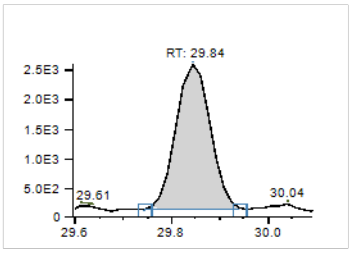
2,3,7,8-TeCDD



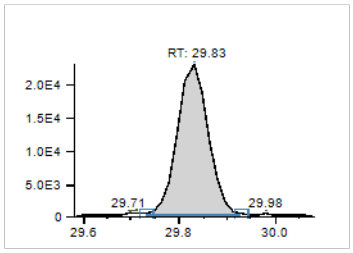
$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDD



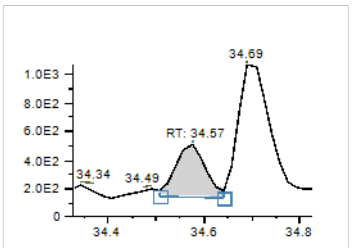
1,2,3,7,8-PeCDD



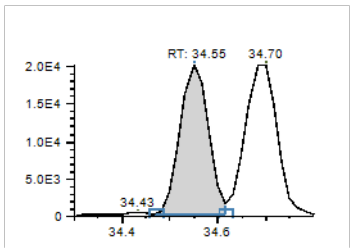
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDD



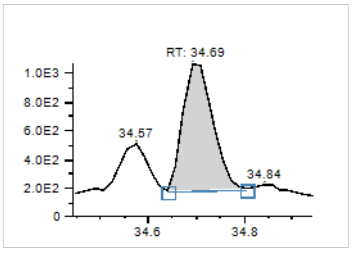
1,2,3,4,7,8-HxCDD



$^{13}C_{12}$-1,2,3,47,8-HxCDD



1,2,3,6,7,8-HxCDD



$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDD

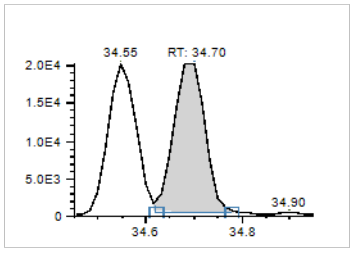
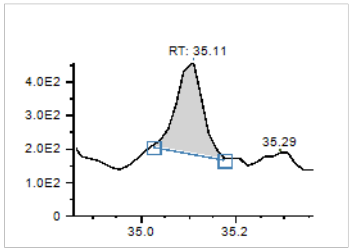
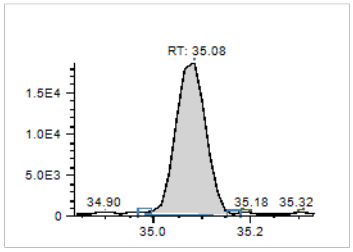


図 4 ボラの SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）

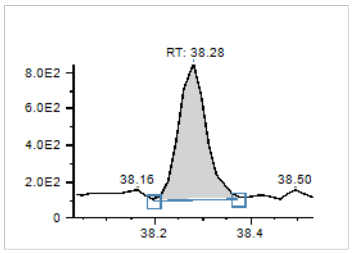
1,2,3,7,8,9-HxCDD



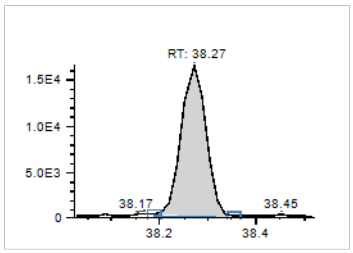
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDD



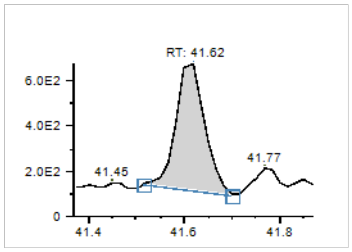
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



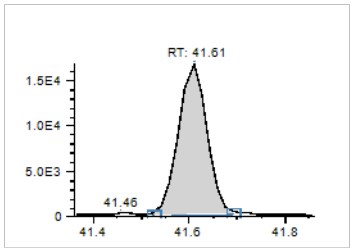
$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



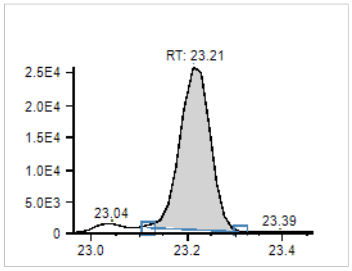
OCDD



$^{13}C_{12}$-OCDD



2,3,7,8-TeCDF



$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDF

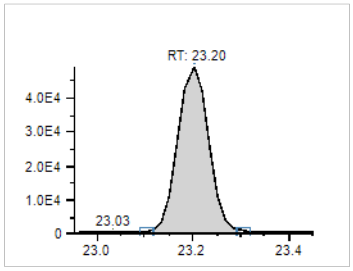
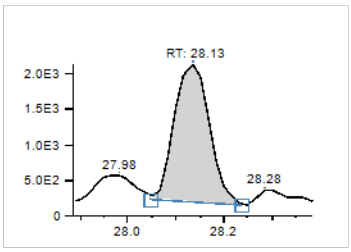
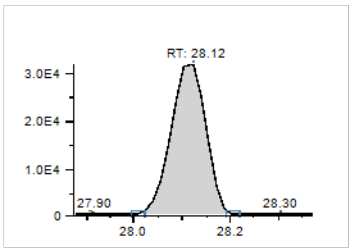


図 4 ボラの SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

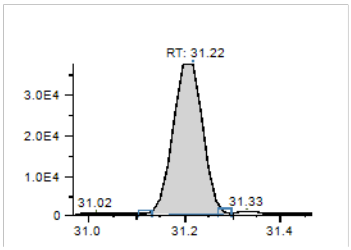
1,2,3,7,8-PeCDF



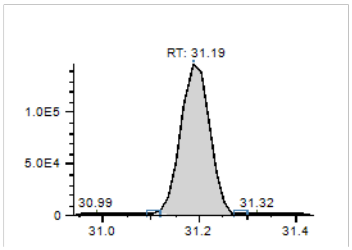
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDF



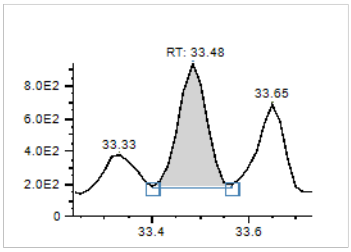
2,3,4,7,8-PeCDF



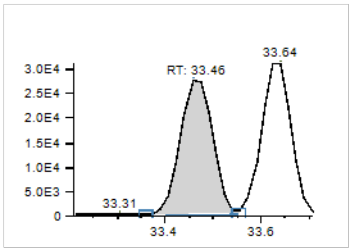
$^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-PeCDF



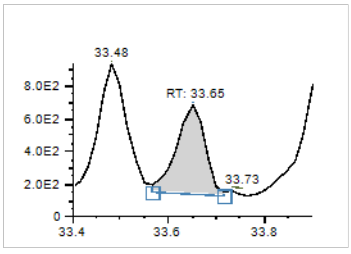
1,2,3,4,7,8-HxCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDF



1,2,3,6,7,8-HxCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDF

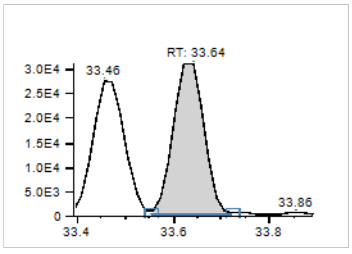
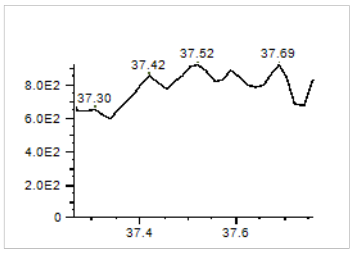
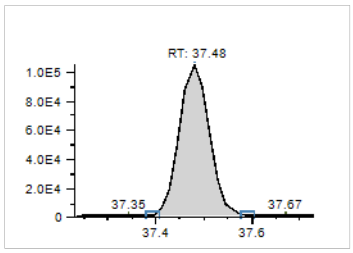


図 4 ボラの SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

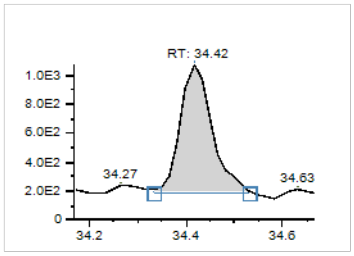
1,2,3,7,8,9-HxCDF



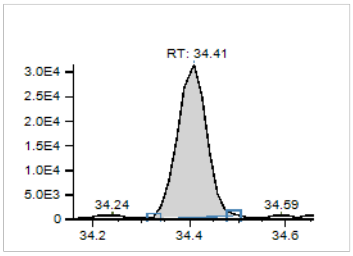
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDF



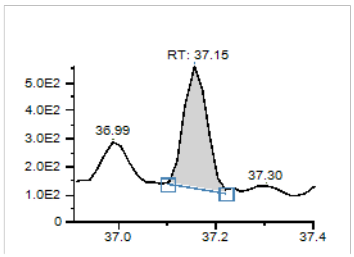
2,3,4,6,7,8-HxCDF



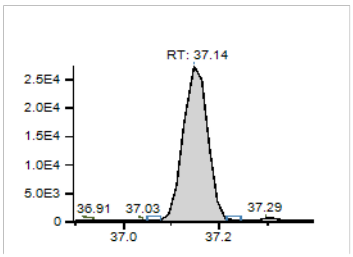
$^{13}C_{12}$-2,3,4,6,7,8-HxCDF



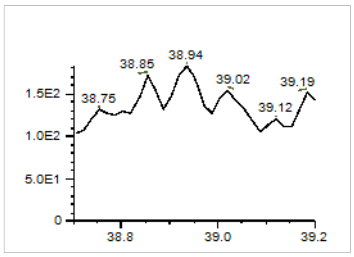
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



1,2,3,4,7,8,9-HpCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF

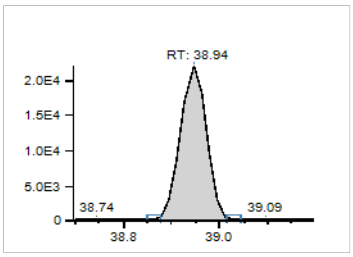
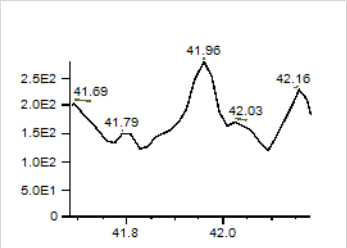


図 4 ボラの SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

OCDF



$^{13}C_{12}$-OCDF

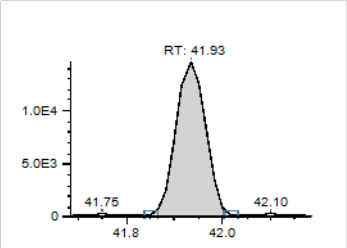
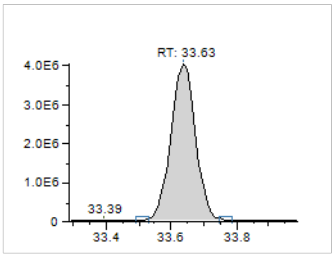
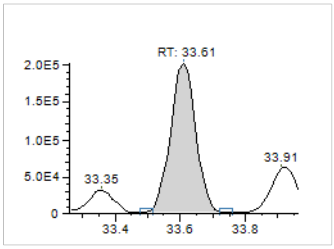


図 4 ボラの SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

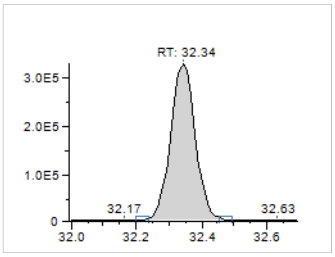
PCB 77



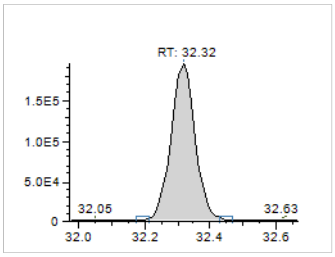
$^{13}C_{12}$–PCB 77



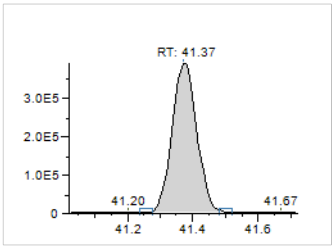
PCB 81



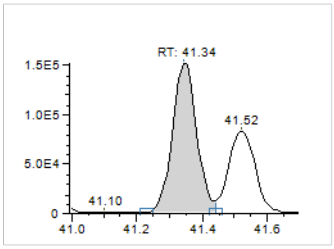
$^{13}C_{12}$–PCB 81



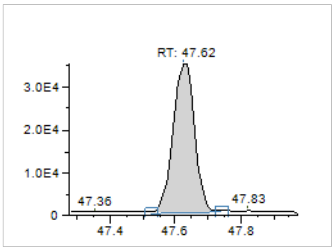
PCB 126



$^{13}C_{12}$–PCB 126



PCB 169



$^{13}C_{12}$–PCB 169

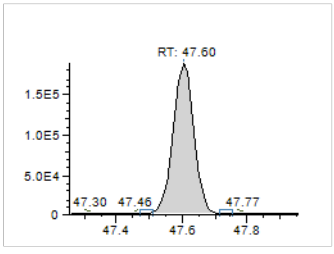
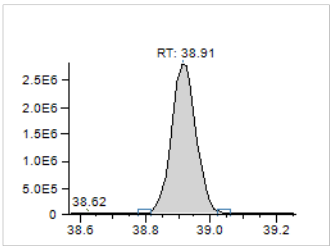
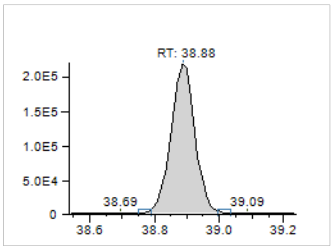


図 5 ボラの SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

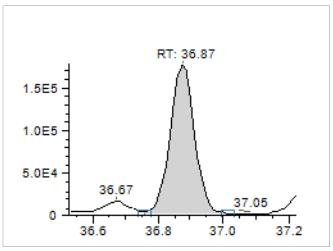
PCB 105



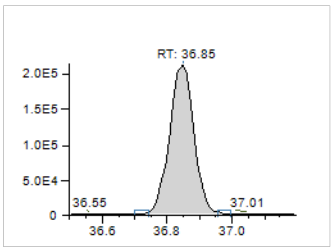
$^{13}C_{12}$–PCB 105



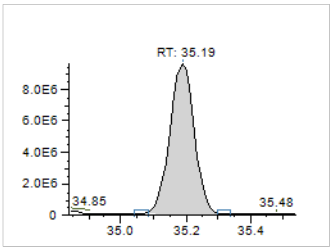
PCB 114



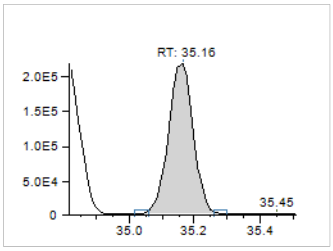
$^{13}C_{12}$–PCB 114



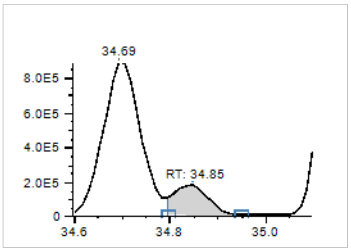
PCB 118



$^{13}C_{12}$–PCB 118



PCB 123



$^{13}C_{12}$–PCB 123

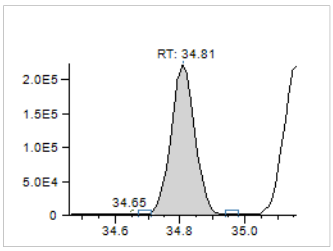
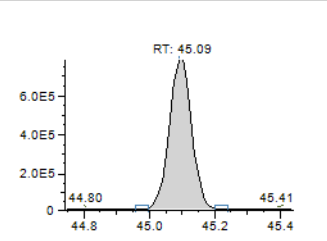
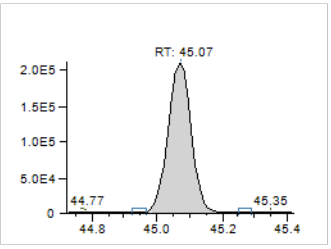


図 5 ボラの SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

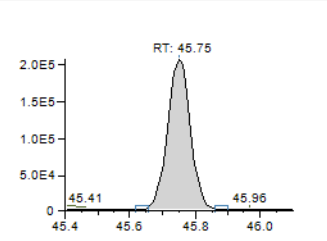
PCB 156



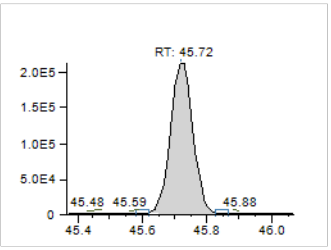
$^{13}C_{12}$–PCB 156



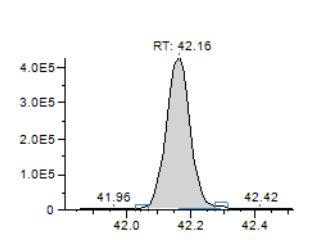
PCB 157



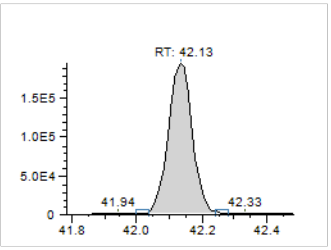
$^{13}C_{12}$–PCB 157



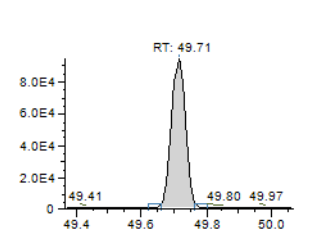
PCB 167



$^{13}C_{12}$–PCB 167



PCB 189



$^{13}C_{12}$–PCB 189

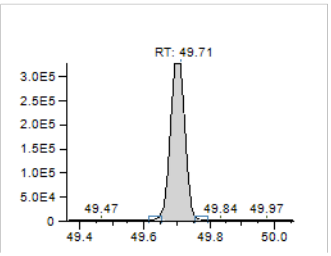
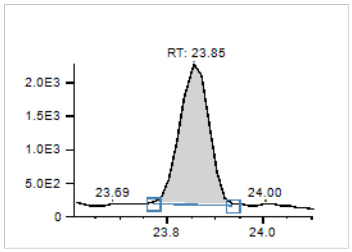
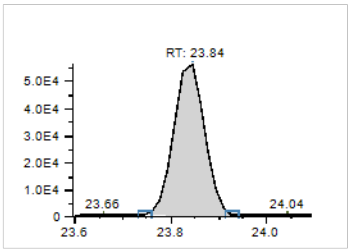


図 5 ボラの SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

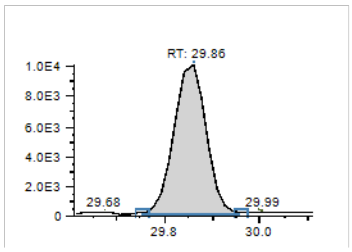
2,3,7,8-TeCDD



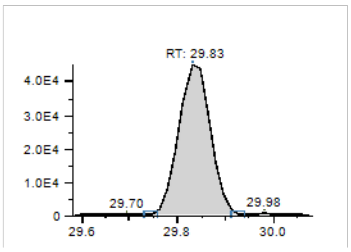
$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDD



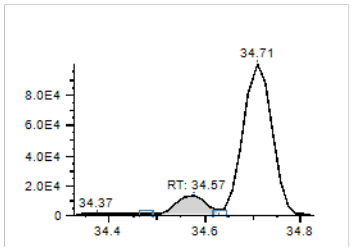
1,2,3,7,8-PeCDD



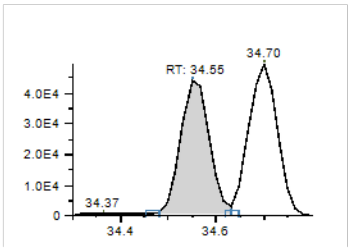
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDD



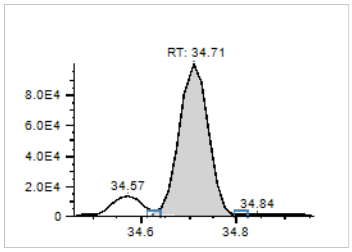
1,2,3,4,7,8-HxCDD



$^{13}C_{12}$-1,2,3,47,8-HxCDD



1,2,3,6,7,8-HxCDD



$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDD

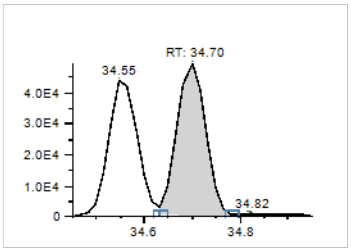
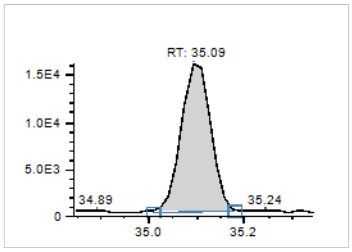
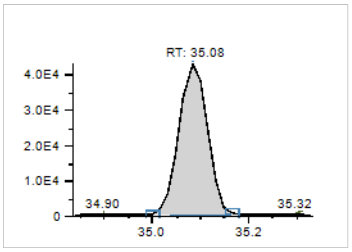


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）

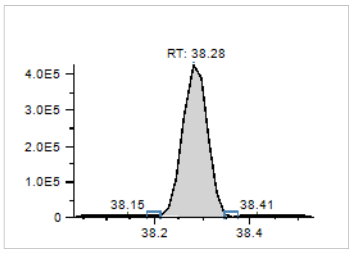
1,2,3,7,8,9-HxCDD



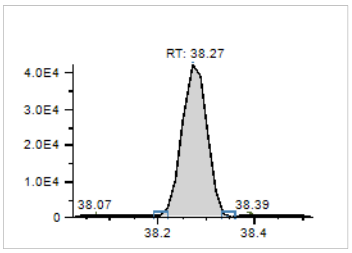
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDD



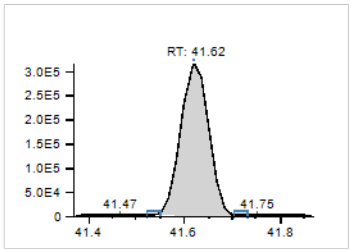
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



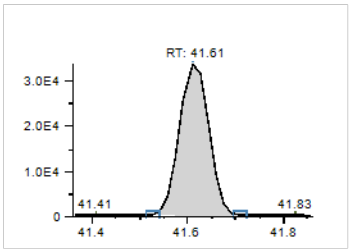
$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



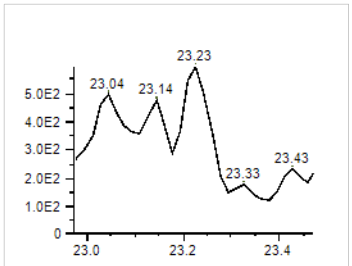
OCDD



$^{13}C_{12}$-OCDD



2,3,7,8-TeCDF



$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDF

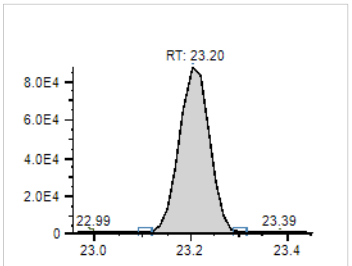
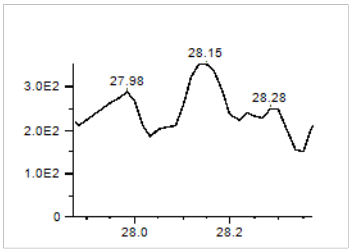
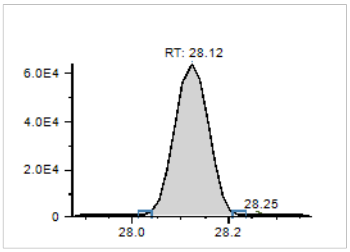


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

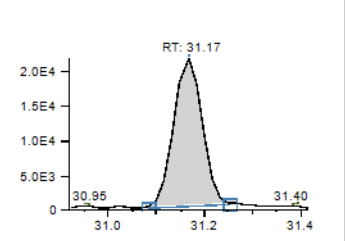
1,2,3,7,8-PeCDF



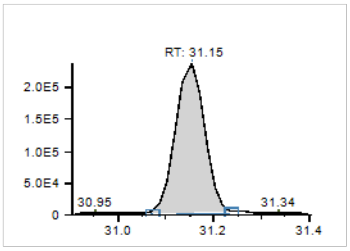
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDF



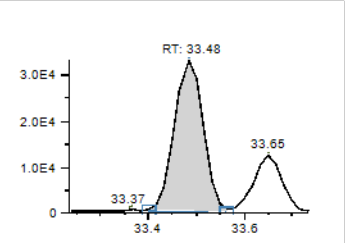
2,3,4,7,8-PeCDF



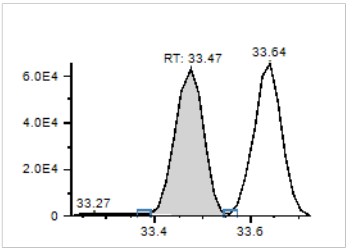
$^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-PeCDF



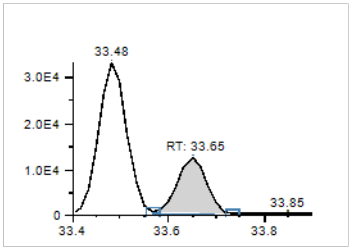
1,2,3,4,7,8-HxCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDF



1,2,3,6,7,8-HxCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDF

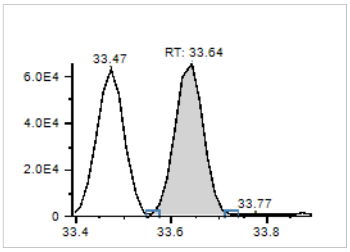
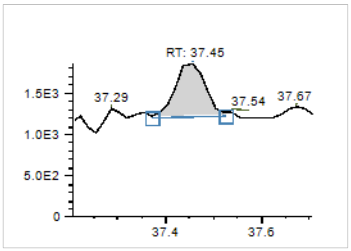
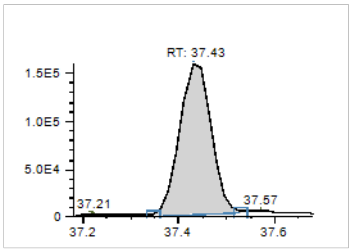


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

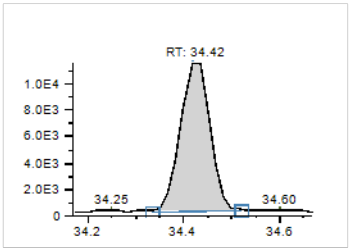
1,2,3,7,8,9-HxCDF



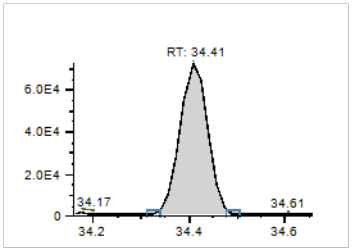
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDF



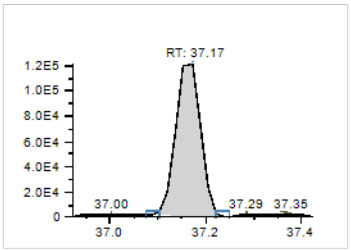
2,3,4,6,7,8-HxCDF



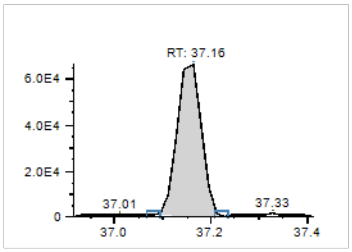
$^{13}C_{12}$-2,3,4,6,7,8-HxCDF



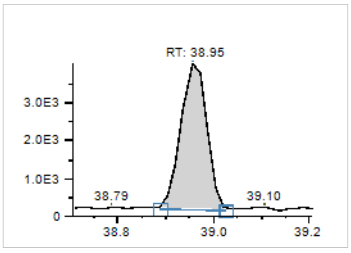
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



1,2,3,4,7,8,9-HpCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF

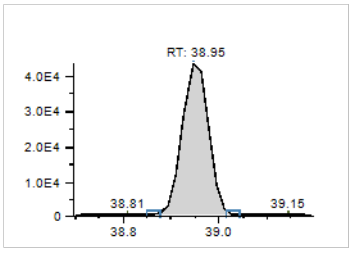
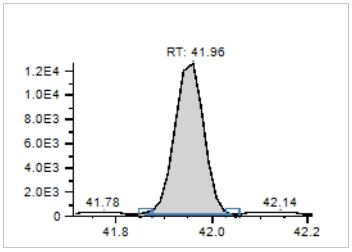


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

OCDF



$^{13}C_{12}$-OCDF

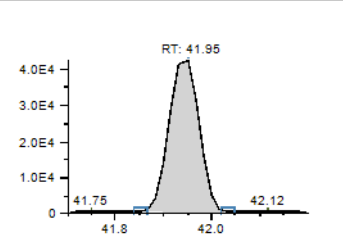
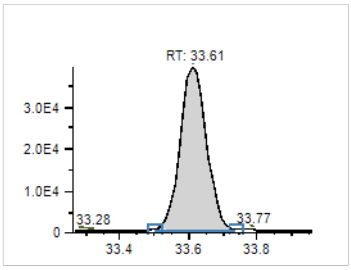
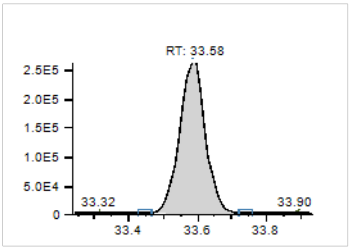


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

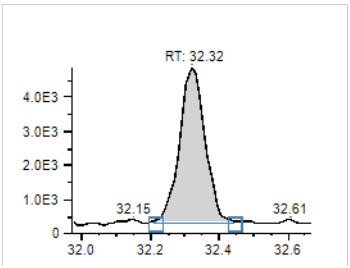
PCB 77



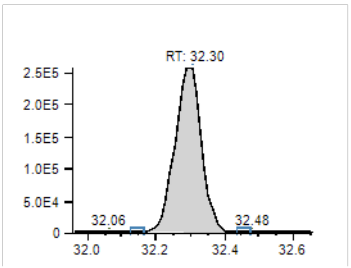
$^{13}C_{12}$–PCB 77



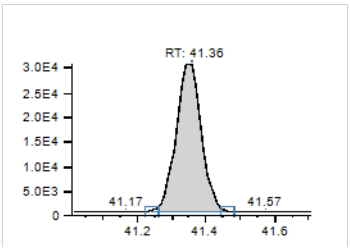
PCB 81



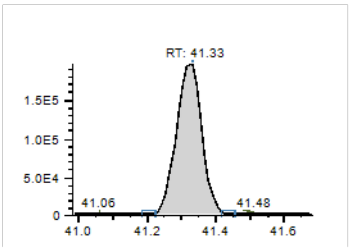
$^{13}C_{12}$–PCB 81



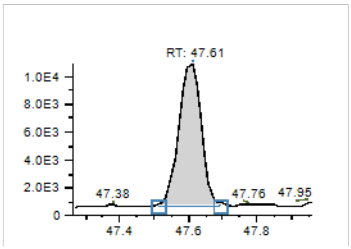
PCB 126



$^{13}C_{12}$–PCB 126



PCB 169



$^{13}C_{12}$–PCB 169

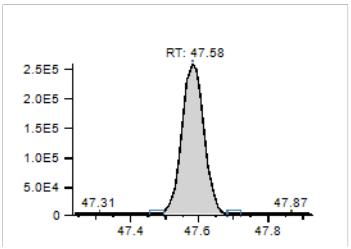
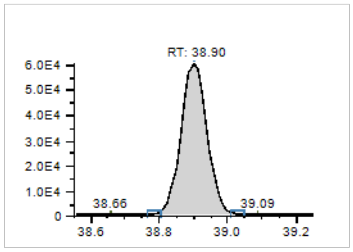
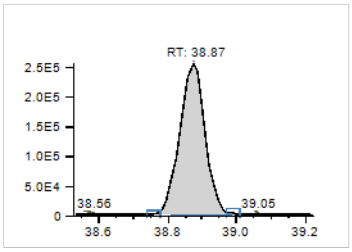


図 7 牛肉の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

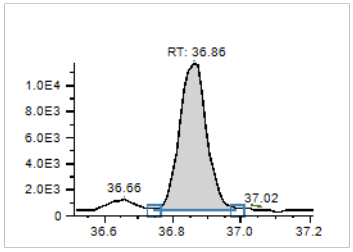
PCB 105



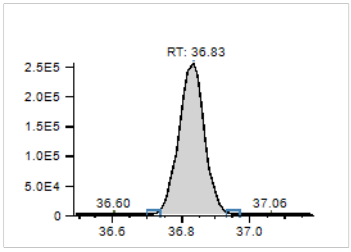
$^{13}C_{12}$–PCB 105



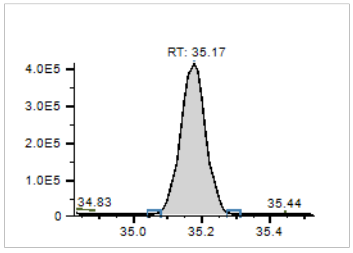
PCB 114



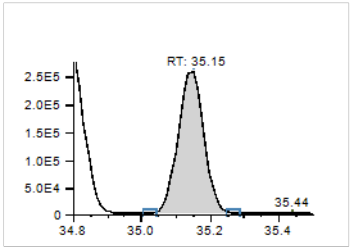
$^{13}C_{12}$–PCB 114



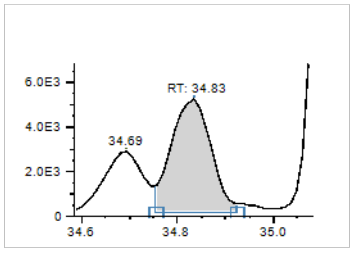
PCB 118



$^{13}C_{12}$–PCB 118



PCB 123



$^{13}C_{12}$–PCB 123

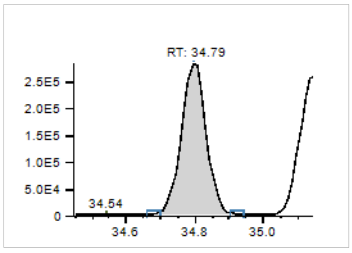
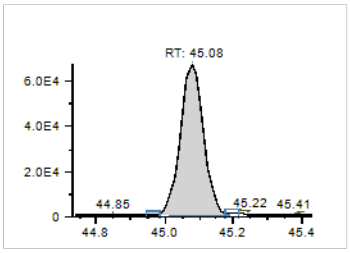
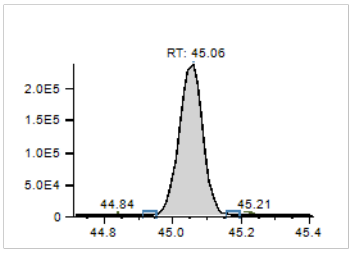


図 7 牛肉の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

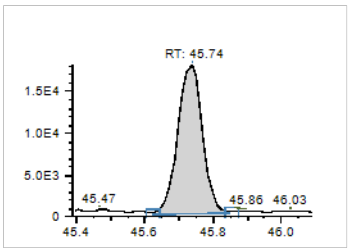
PCB 156



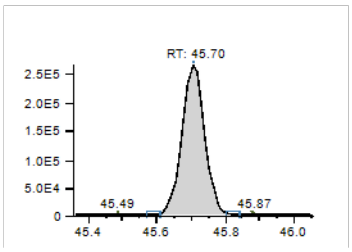
$^{13}C_{12}$–PCB 156



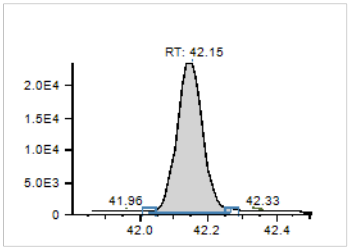
PCB 157



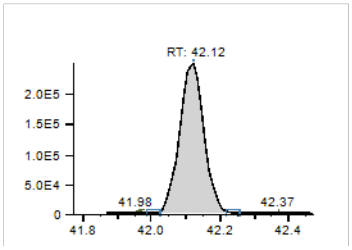
$^{13}C_{12}$–PCB 157



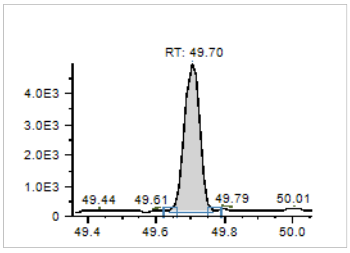
PCB 167



$^{13}C_{12}$–PCB 167



PCB 189



$^{13}C_{12}$–PCB 189

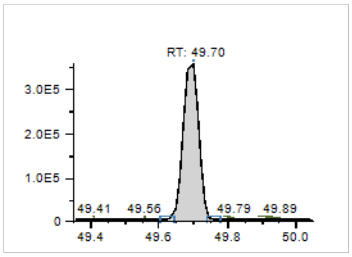
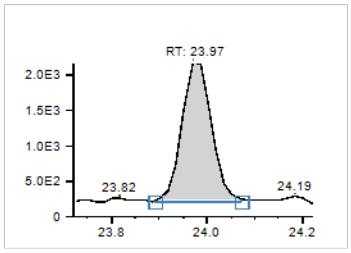
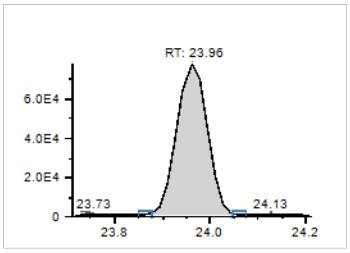


図 7 牛肉の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

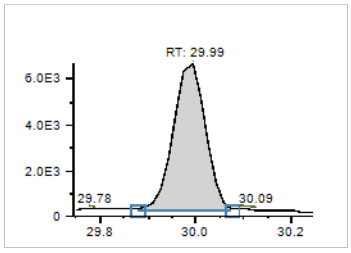
2,3,7,8-TeCDD



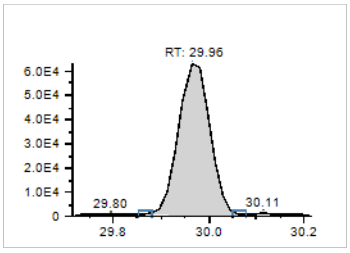
$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDD



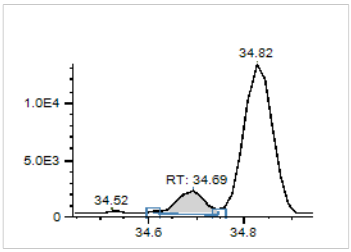
1,2,3,7,8-PeCDD



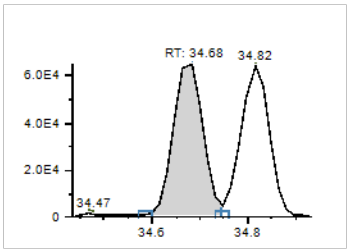
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDD



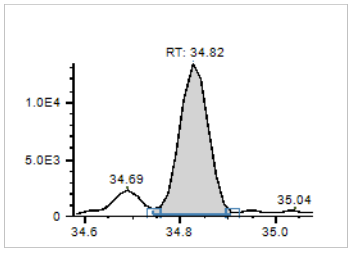
1,2,3,4,7,8-HxCDD



$^{13}C_{12}$-1,2,3,47,8-HxCDD



1,2,3,6,7,8-HxCDD



$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDD

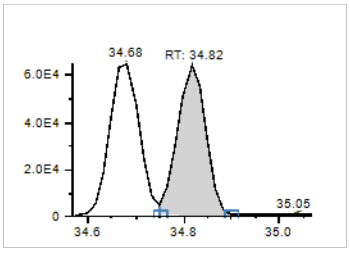
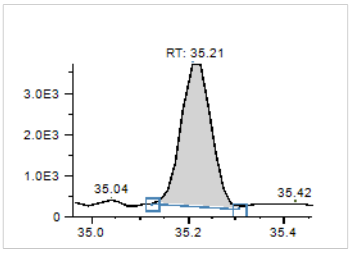
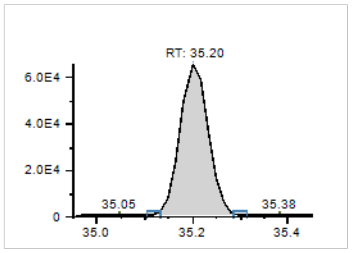


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）

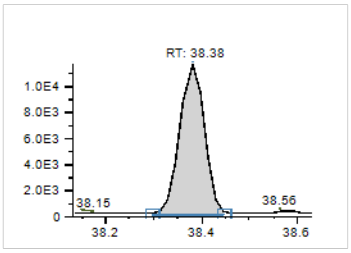
1,2,3,7,8,9-HxCDD



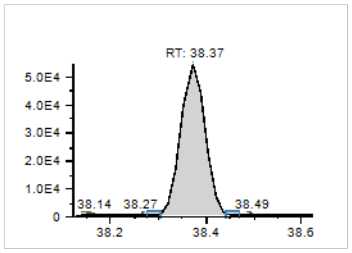
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDD



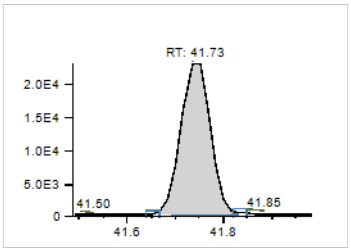
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



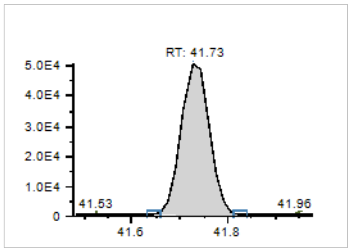
$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



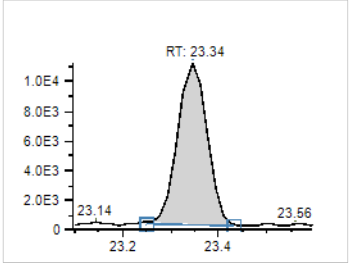
OCDD



$^{13}C_{12}$-OCDD



2,3,7,8-TeCDF



$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDF

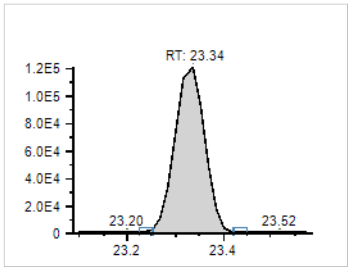
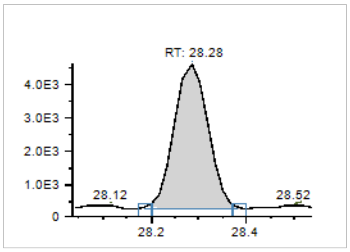
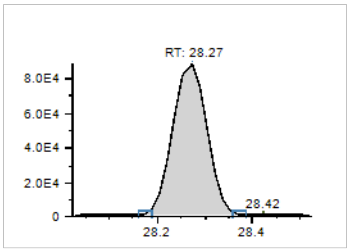


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

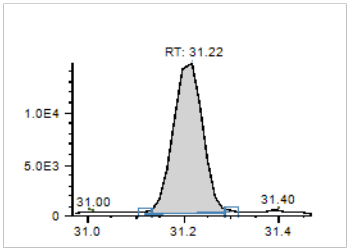
1,2,3,7,8-PeCDF



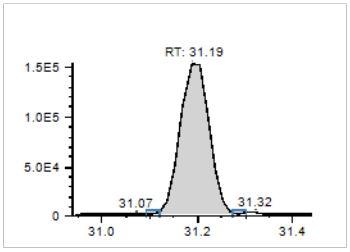
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDF



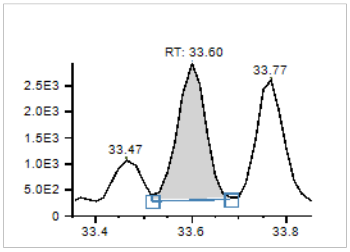
2,3,4,7,8-PeCDF



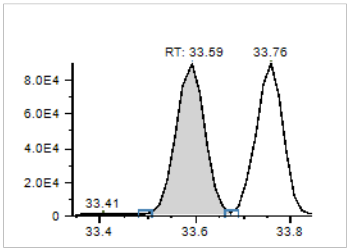
$^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-PeCDF



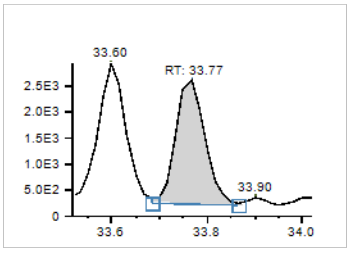
1,2,3,4,7,8-HxCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDF



1,2,3,6,7,8-HxCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDF

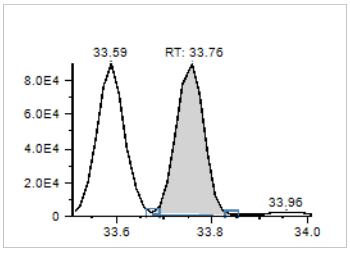
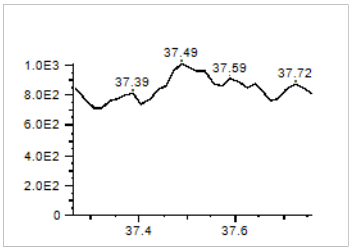
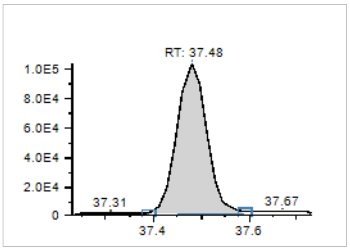


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

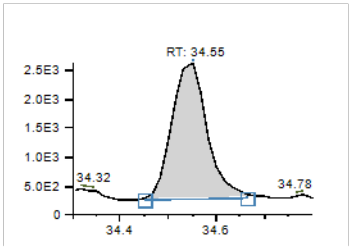
1,2,3,7,8,9-HxCDF



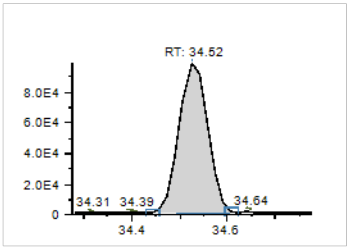
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDF



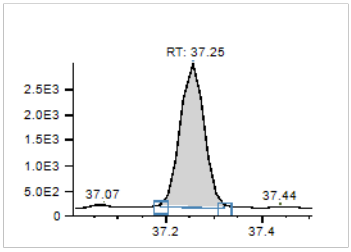
2,3,4,6,7,8-HxCDF



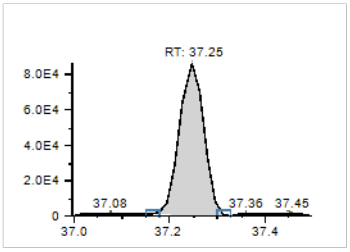
$^{13}C_{12}$-2,3,4,6,7,8-HxCDF



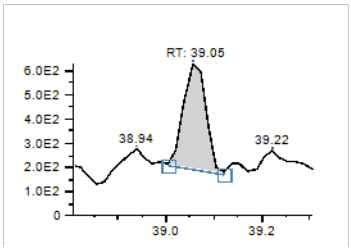
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



1,2,3,4,7,8,9-HpCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF

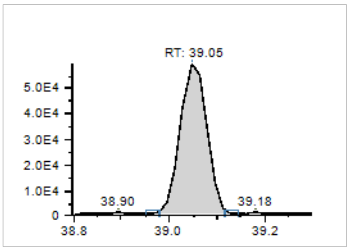
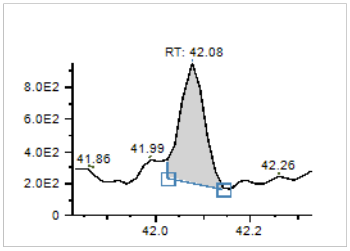


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

OCDF



$^{13}C_{12}$-OCDF

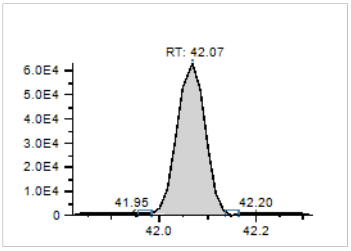
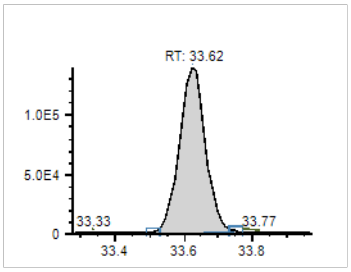
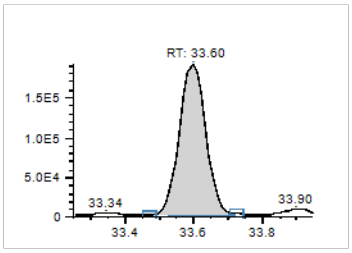


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

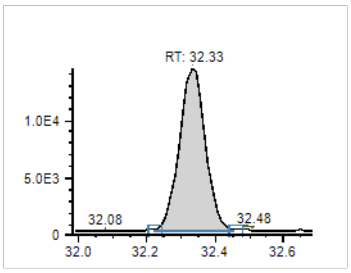
PCB 77



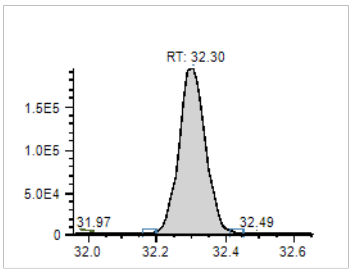
$^{13}C_{12}$–PCB 77



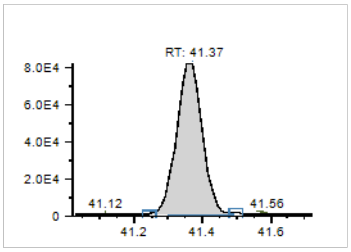
PCB 81



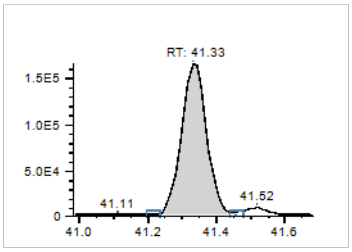
$^{13}C_{12}$–PCB 81



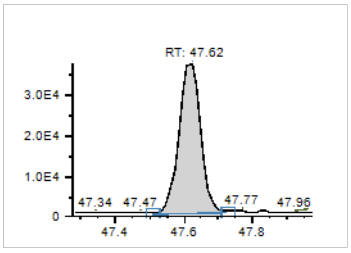
PCB 126



$^{13}C_{12}$–PCB 126



PCB 169



$^{13}C_{12}$–PCB 169

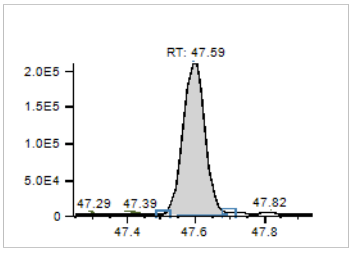
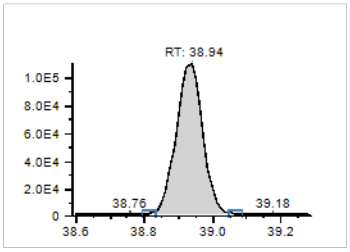
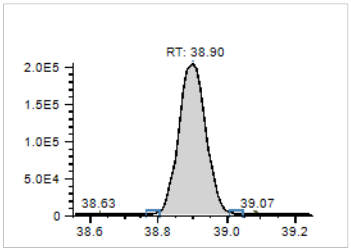


図 9 鶏卵の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

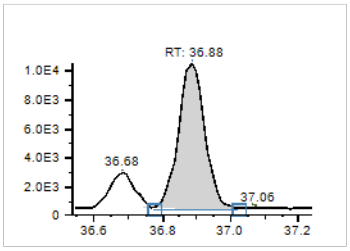
PCB 105



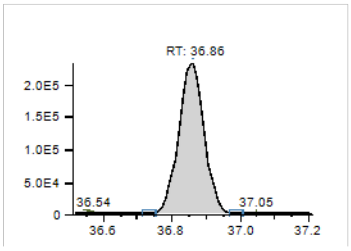
$^{13}C_{12}$–PCB 105



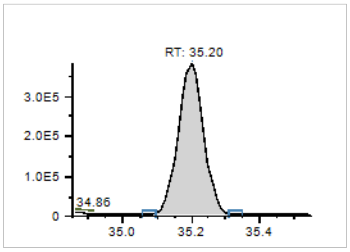
PCB 114



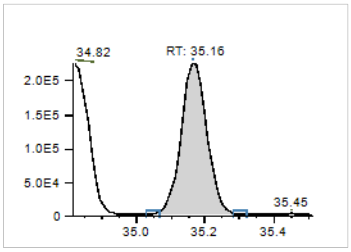
$^{13}C_{12}$–PCB 114



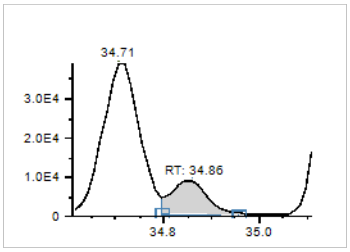
PCB 118



$^{13}C_{12}$–PCB 118



PCB 123



$^{13}C_{12}$–PCB 123

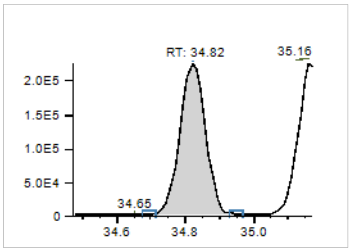
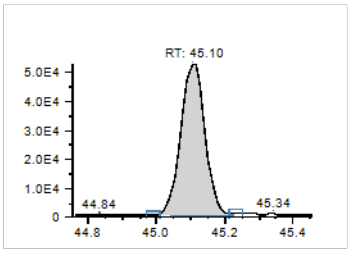
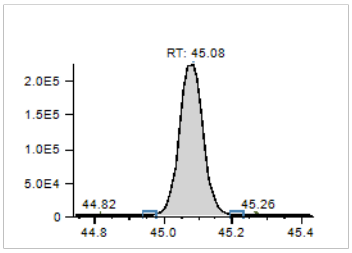


図 9 鶏卵の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

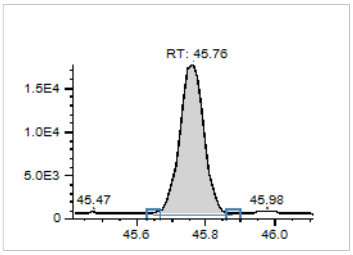
PCB 156



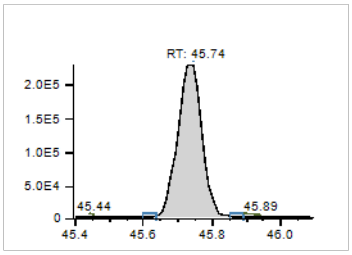
$^{13}C_{12}$–PCB 156



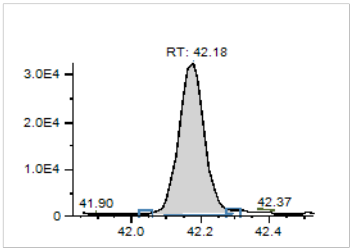
PCB 157



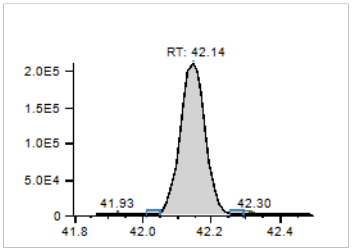
$^{13}C_{12}$–PCB 157



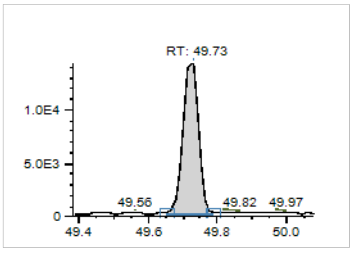
PCB 167



$^{13}C_{12}$–PCB 167



PCB 189



$^{13}C_{12}$–PCB 189

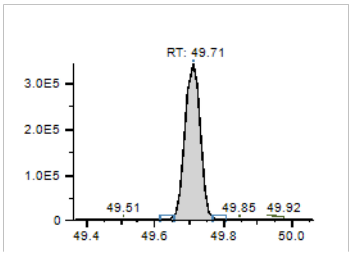
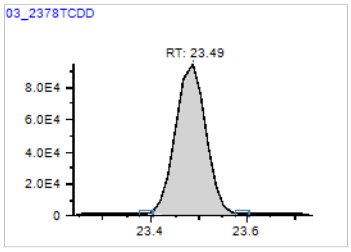
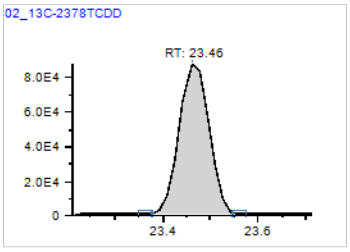


図 9 鶏卵の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

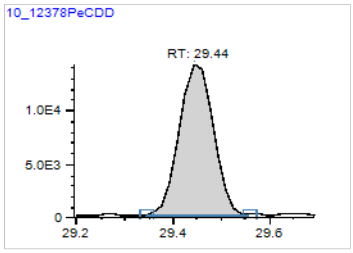
2,3,7,8-TeCDD



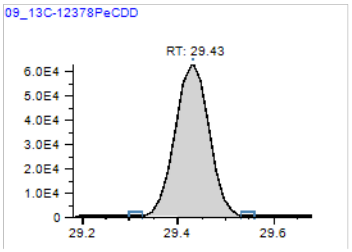
$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDD



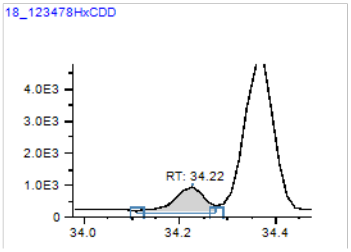
1,2,3,7,8-PeCDD



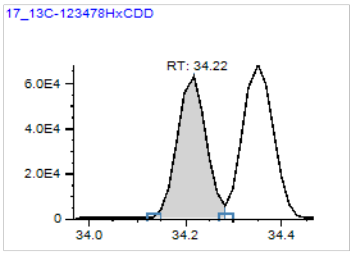
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDD



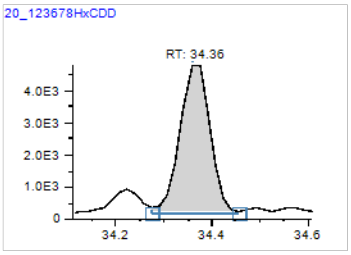
1,2,3,4,7,8-HxCDD



$^{13}C_{12}$-1,2,3,47,8-HxCDD



1,2,3,6,7,8-HxCDD



$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDD

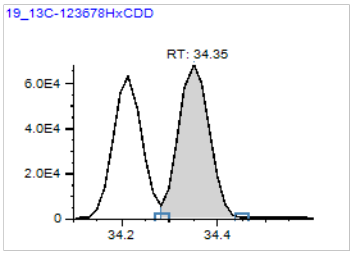
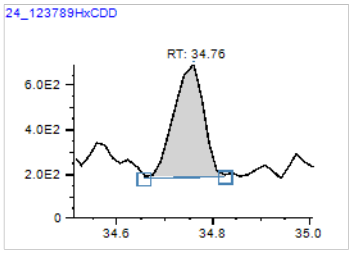
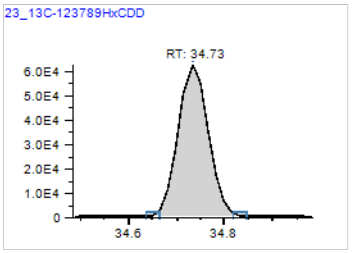


図 10 WMF-01 の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）

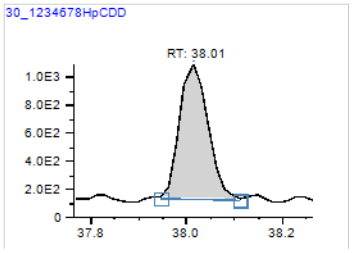
1,2,3,7,8,9-HxCDD



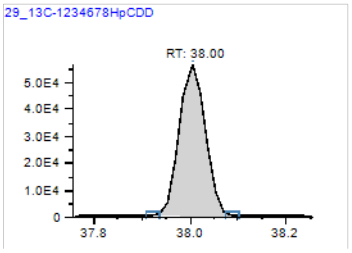
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDD



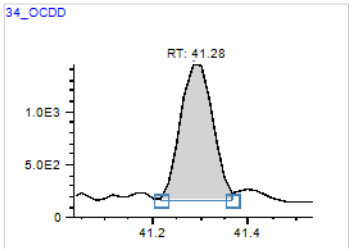
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



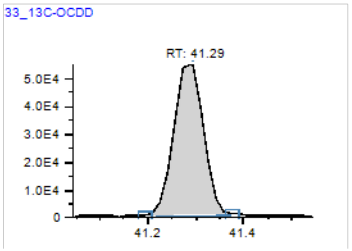
$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



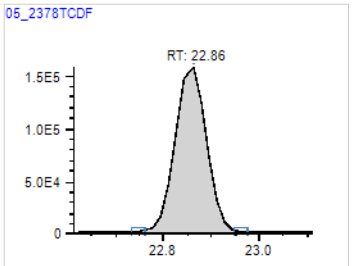
OCDD



$^{13}C_{12}$-OCDD



2,3,7,8-TeCDF



$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDF

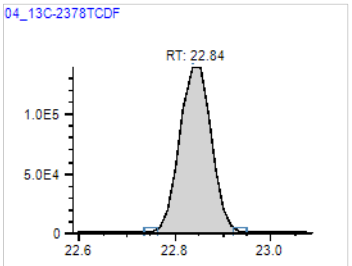
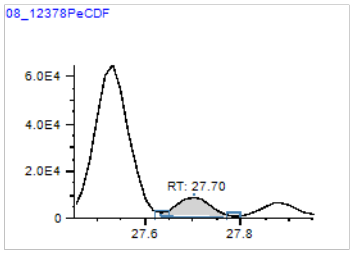
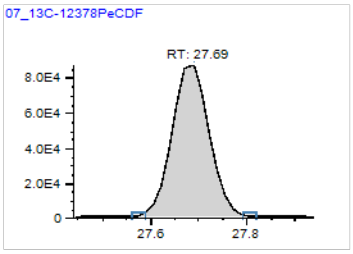


図 10 WMF-01 の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

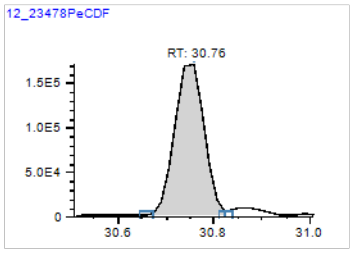
1,2,3,7,8-PeCDF



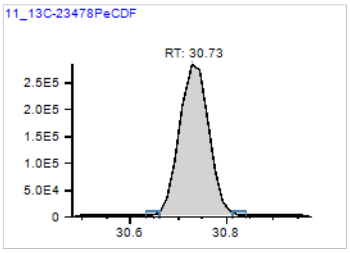
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDF



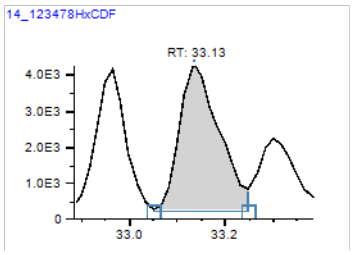
2,3,4,7,8-PeCDF



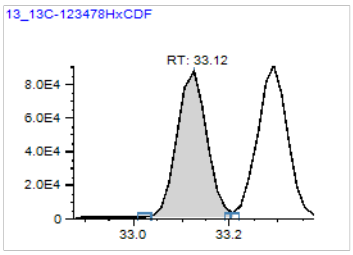
$^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-PeCDF



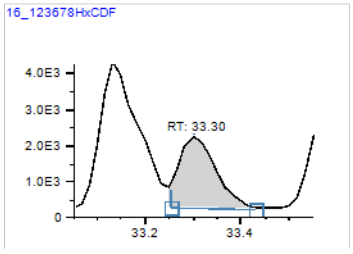
1,2,3,4,7,8-HxCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDF



1,2,3,6,7,8-HxCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDF

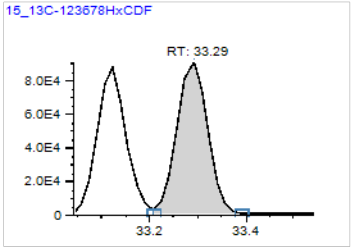
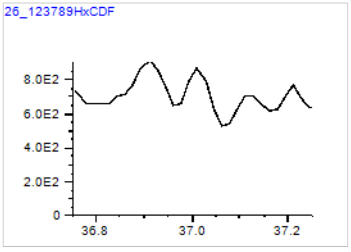
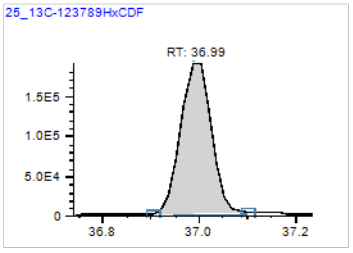


図 10 WMF-01 の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

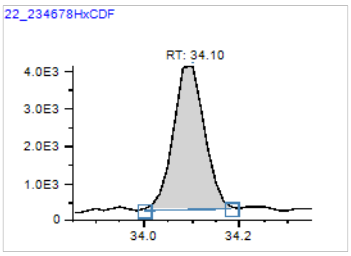
1,2,3,7,8,9-HxCDF



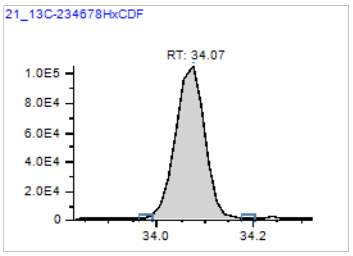
$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDF



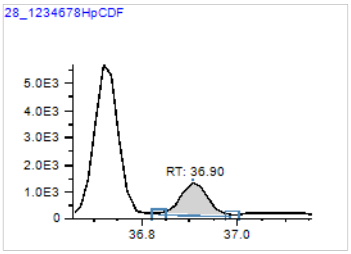
2,3,4,6,7,8-HxCDF



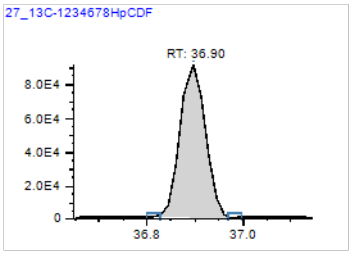
$^{13}C_{12}$-2,3,4,6,7,8-HxCDF



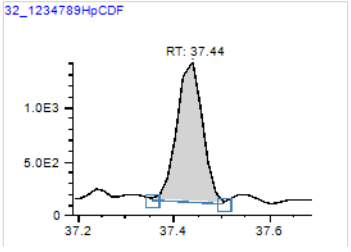
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



1,2,3,4,7,8,9-HpCDF



$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF

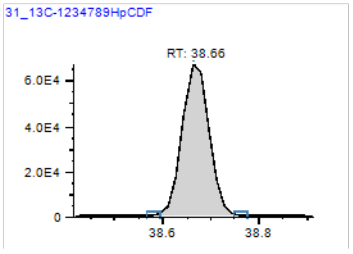
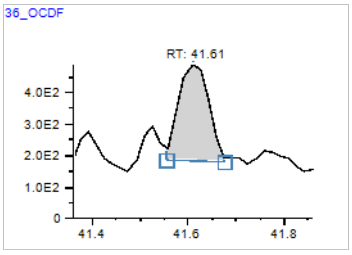


図 10 WMF-01 の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

OCDF



$^{13}C_{12}$–OCDF

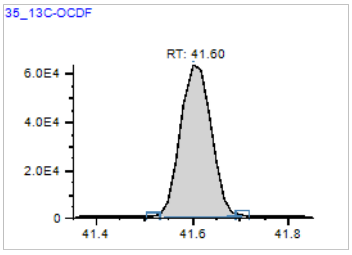


図 10 WMF-01 の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

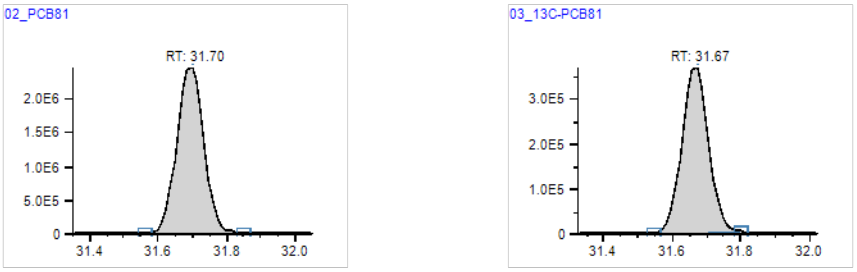
PCB 77

$^{13}C_{12}$–PCB 77



PCB 81

$^{13}C_{12}$–PCB 81



PCB 126

$^{13}C_{12}$–PCB 126



PCB 169

$^{13}C_{12}$–PCB 169

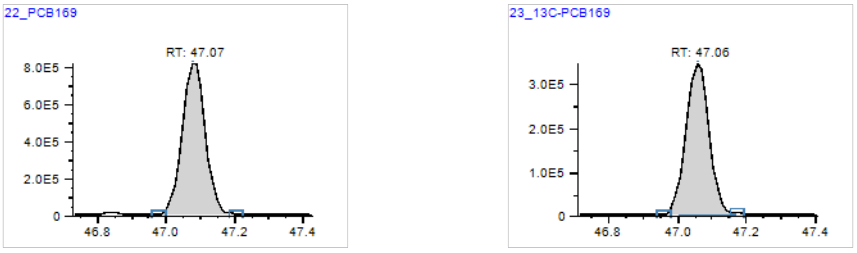
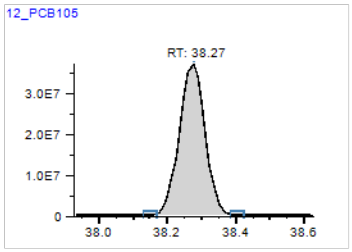
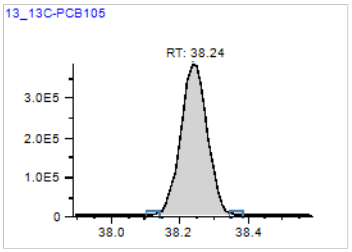


図 11 WMF-01 の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

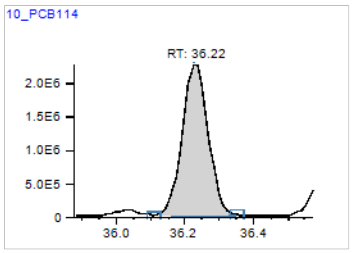
PCB 105



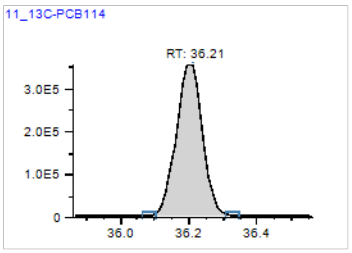
$^{13}C_{12}$–PCB 105



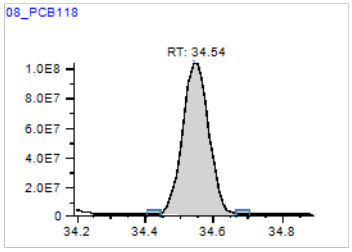
PCB 114



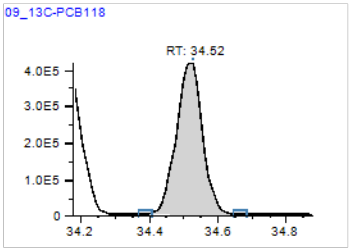
$^{13}C_{12}$–PCB 114



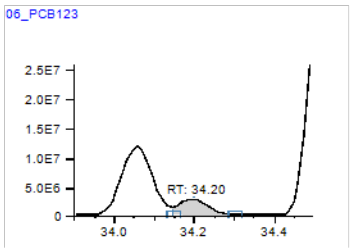
PCB 118



$^{13}C_{12}$–PCB 118



PCB 123



$^{13}C_{12}$–PCB 123

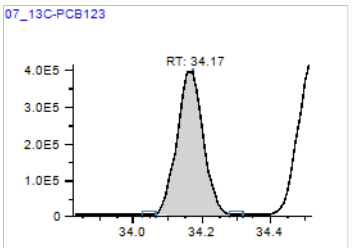
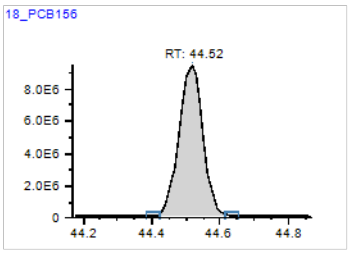
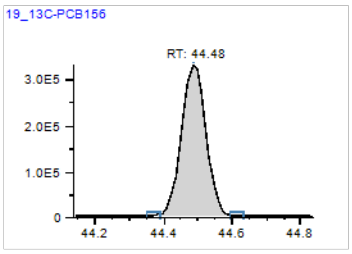


図 11 WMF-01 の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

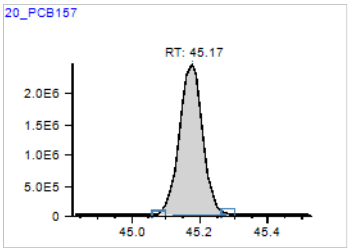
PCB 156



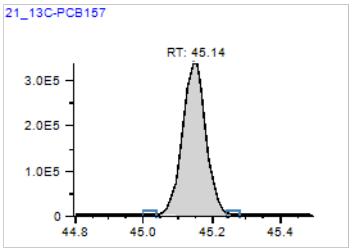
$^{13}C_{12}$–PCB 156



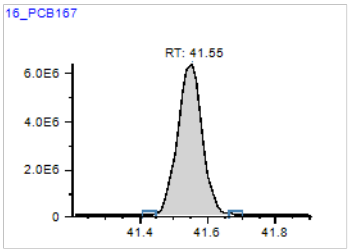
PCB 157



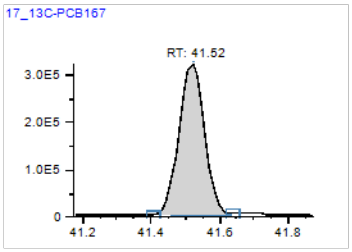
$^{13}C_{12}$–PCB 157



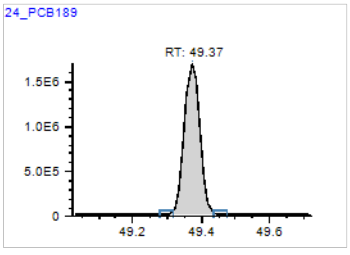
PCB 167



$^{13}C_{12}$–PCB 167



PCB 189



$^{13}C_{12}$–PCB 189

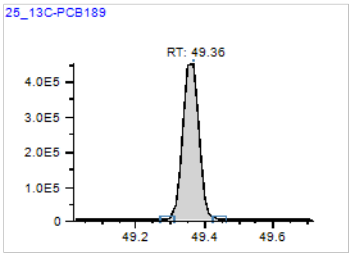


図 11 WMF-01 の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

Ⅱ．分担研究報告書

(3)有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1)GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

(3-1-2)APCI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

研究分担者　堤　智昭

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

(3)有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究
(3-1)GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討
(3-1-2)APCI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

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

GC-MS/MSを用いた食品中のダイオキシン類分析の検討として、本年度はAPCI法を用いたGC-MS/MSによるダイオキシン類分析の測定条件を検討した。分析対象となる毒性等価係数を有するダイオキシン類（17種のPCDD/PCDFs及び12種のCo-PCBs）のSRM条件を設定した。GCカラムについては分析対象となるダイオキシン類が良好に分離可能となるよう2種類のGCカラム（BPX-DXN及びRH-12ms）を使用した。検討した測定条件により検量線作成用標準液を測定した結果、相対感度係数（RRF）の変動係数は10%以下であり、良好な結果であった。また、最低濃度の検量線作成用標準液を繰り返し測定（10回）して、試料測定時（50 g使用時）のダイオキシン類の検出下限値（LODs）及び定量下限値（LOQs）を推定した。推定したLODs及びLOQsは「食品中のダイオキシン類測定方法暫定ガイドライン」で示されている目標検出下限を満たしていた。魚試料への適用性を検討するため、GC-MS/MSを用いて認証標準試料（キングサーモン切り身の凍結乾燥物）のダイオキシン分析を実施した。ダイオキシン類の分析結果は、概ね認証値（又は参考値）の平均値±2SDの範囲内に収まっていたが、一部のダイオキシン類については範囲外となった。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

足立利華、高附 巧、張 天斉、鍋師裕美

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、高分解能 GC/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（以下、ガイドライン）[1]にもその使用が記載されている。しかし、高分解能 GC/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 は高分解能 GC/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高分解能 GC/MS と共に、GC-MS/MS の使用が認められている [2]。また、最近では GC-MS/MS の高感度化が進んでおり、食品中のダイオキシン類分析への利用が進みつつある [3, 4]。令和 4 年度から令和 6 年度にかけて、電子イオン化（EI）法を用いた GC-MS/MS による畜水産物中のダイオキシン類の分析法を検討してきた [5-

[7]。近年、GC-MS/MS におけるイオン化法として、一般的である EI 法に加え、大気圧化学イオン化（APCI）法も用いられるようになってきた。APCI 法ではフラグメンテーションが起こりにくいため、感度や選択性の高い測定が可能と考えられている。食品中のダイオキシン類分析においても APCI 法を用いた GC-MS/MS の利用が報告[4, 8, 9]されているが、詳細な検討についての報告は限られている。そこで、本年度は新たに APCI 法を用いた GC-MS/MS（GC-(APCI)MS/MS）によるダイオキシン類分析の基礎検討として、測定条件を検討した。

B. 研究方法

1. 試薬及び器具

本年度の分担研究報告書「（3-1-1）GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の検討」[7]に従った。

2. 機器

・ホモジナイザー：レッチェ社製 GM200

・ GC-MS/MS ： 7890 （Agilent Technologies）/Xevo TQ-XS タンデム四重極質量分析計（Waters 社製） with APCI source

3. GC-(APCI)MS/MS によるダイオキシン類分析

3-1. 試験溶液の調製

本年度の分担研究報告書「（3-1-1）GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の検討」[7]に従った。

3-2. GC-(APCI)MS/MS 測定条件

【GC 条件】

① 2,3,7,8 － TeCDD 、1,2,3,7,8 － PeCDD 、1,2,3,7,8 － PeCDF 、1,2,3,4,7,8 － 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 － TeCDF 、1,2,3,4,7,8 － HxCDF 、1,2,3,6,7,8 － 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：BPX-DXN（内径 0.25 mm×60 m）

注入方式：スプリットレス

注入口温度：260℃

注入量：1 μL

トランスファーライン温度： 320℃

昇温条件：140℃(1 分保持)-20℃/分-220℃-2℃/分-260℃(2.6 分保持) -5℃/分-292℃-1℃/分-293℃-15℃/分-320℃(7 分保持)

キャリアーガス：ヘリウム （流速: 1.5 mL/分）

②2,3,4,7,8 － PeCDF 、1,2,3,7,8,9 － HxCDF

カラム：RH-12ms（内径 0.25 mm×60 m）

注入方式：スプリットレス

注入口温度：260℃

注入量：1 μL

トランスファーライン温度：320℃

昇温条件：130℃(1 分保持)-15℃/分-210℃-3℃/分-310℃ （11 分保持）

キャリアーガス：ヘリウム （流速: 1.3 mL/分）

③Co-PCBs

カラム：RH-12ms（内径 0.25 mm×60 m）

注入方式：スプリットレス

注入口温度：260℃

注入量：1 μL

トランスファーライン温度：320℃

昇温条件：130℃(1 分保持)-15℃/分-200℃-1℃/分-220℃-2℃/分-250℃-3℃/分-270℃-15℃/分-310℃(5 分保持)

キャリアーガス：ヘリウム （流速: 1.3 mL/分）

【MS/MS 条件】

イオン化法：APCI(+)

イオン源温度：150℃

コロナ電流：2 μA

コーンガス流量：270 L/h

AUX ガス流量：200 L/h

メイクアップガス流量：320 mL/min

コリジョンガス：アルゴン

測定モード：選択的反応モニタリング（SRM）

SRM 測定における各化合物の取り込み時間：

カラム：BPX-DXN（PCDD/PCDFs）
セグメント1（19 分-26 分）：四塩化物
セグメント 2（26 分-31.5 分）：五塩化物
セグメント 3（31.5 分-36.5 分）：六塩化物
セグメント 4（36.5 分-40 分）：七塩化物
セグメント 5（40 分-43.8 分）：八塩化物
カラム：RH-12ms（PCDD/PCDFs）
セグメント1（22 分-28 分）：四塩化物
セグメント 2（28 分-33.4 分）：五塩化物
セグメント 3（33.4 分-38.3 分）：六塩化物
セグメント 4（38.3 分-43.5 分）：七塩化物
セグメント 5（43.5 分-48.5 分）：八塩化物
カラム：RH-12ms（Co-PCBs）
セグメント1（28 分-34.7 分）：四塩化物
セグメント 2（34.7 分-42.2 分）：五塩化物
セグメント 3（42.2 分-48.5 分）：六塩化物
セグメント 4（48.5 分-51 分）：七塩化物

3-3. 検量線の作成

相対感度係数法により検量線を作成した。検量線用標準溶液（PCDD/PCDFs は 5 濃度、Co-PCBs は 6 濃度）に対して 3 回測定を実施し、PCDD/PCDFs では計 15 点、Co-PCBs では計 18 点の測定データを得た。検量線用標準溶液の組成と濃度を表 1 に示した。各測定データについて、各分析対象物質とそれに対応するクリーンアップスパイクとの相対感度係数（RRF）、及びクリーンアップスパイクとそれに対応するシリンジスパイクの相対感度係数（RRFss）を算出した。検量線作成時の測定データにおける RRF の変動係数は 10%以内、RRFss の変動係数は 20%以内を目標とした。

3-4. 検出下限値及び定量下限値

最低濃度の検量線用標準溶液を 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を検出下限値（LOD）、10σを定量下限値（LOQ）とした。

3-5. 試験溶液の測定

試験溶液の測定開始時には 3 濃度の検量線用標準溶液を測定して、RRF 及び RRFss を求めた。これらの値が、検量線作成時の RRF 及び RRFss と比較し、RRF については±10%以内、RRFss については±20%以内であることを確認した。検量線作成時の RRF 及び RRFss を用いて、試験溶液に含まれるダイオキシン類を定量した。試験溶液より得られた分析対象物質と内標準物質の面積比が検量線用標準溶液の面積比の範囲外となった場合は、外挿により定量値を算出した。

C. 研究結果及び考察

1. GC-(APCI)MS/MS 測定条件の検討

毒性等価係数を有する 29 種のダイオキシン類（17 種の PCDD/PCDFs 及び 12 種の Co-PCBs）について、既報 [9]を参考にモニターイオン及びコリジョンエネルギー（eV）を選択した。設定した PCDD/PCDFs 測定及び Co-PCBs 測定の SRM 条件を表 2 に示した。

GC カラムについては 29 種のダイオキシン類を良好に分離する必要があることから、2 種類の GC カラム（BPX-DXN 及び RH-12ms）を用いた。17 種の PCDD/PCDFs の内、2,3,4,7,8－PeCDF、1,2,3,7,8,9－HxCDF、については、RH-12ms を用いて測定した。残りの PCDD/PCDFs については、BPX-DXN を用いて測定した。12 種の Co-PCBs については RH-12ms を用いて測定した。GC カラムの昇温条件については既報 [7]を参考にした。

2. 検量線の作成（RRF 及び RRFss の算出）

検量線作成用標準液を測定し RRF 及び RRFss を求めた（表 3）。PCDD/PCDFs の RRF は 0.896～1.153（変動係数は 2.8～7.0%）、RRFss は 0.319～1.382（変動係数は 3.5～10.1%）であった。Co-PCBs の RRF は 1.004～1.111（変動係数は 2.7～4.8%）、RRFss は 0.506～0.920（変動係数は 5.0～8.1%）であった。ガイドラインでは検量

線作成時の RRF の変動係数は 10%以内が目標とされている。今回得られた RRF の変動係数は 7.0%以下であることから、ガイドラインの目標値を満たしていた。

3. LODs 及び LOQs の推定

最も濃度が低い検量線作成用標準液（Conc.1）の繰り返し測定（10 回）より推定した GC-MS/MS 分析の試料測定時（50 g 使用時）の LODs 及び LOQs を表 4 に示した。なお、試験溶液調製時の操作ブランクを考慮していないことから暫定値とした。PCDD/PCDFs の LODs は 0.001～0.004 pg/g、LOQs は 0.002～0.012 pg/g であった。Co-PCBs の LODs は 0.002～0.093 pg/g、LOQs は 0.006～0.31 pg/g であった。SRM クロマトグラム（定量イオン）の一例を図 1 及び図 2 に示した。

ガイドラインでは、LODs や操作ブランク値等の許容性を判断する基準として、目標検出下限が示されている。GC-MS/MS 分析の試料測定時の LODs を目標検出下限と比較すると、全てのダイオキシン類において目標検出下限を満たしていた。また LOQs についても目標検出下限を満たしており、本分析法はガイドラインに示された目標検出下限までのダイオキシン類を定量できると考えられた。

4. 認証標準試料の分析

GC-(APCI)MS/MS によるダイオキシン類分析の魚試料への適用性を検討するため、認証標準試料（WMF-01）を分析した（表 5）。GC-(APCI)MS/MS 分析の結果、LOQs 以上の分析値が得られたダイオキシン類については概ね認証値（又は参考値）の平均値±2SD の範囲内に収まっていた。しかし、Co-PCBs である#118 の分析値は、認証値の平均値±2SD の範囲外となった。明確な原因は特定できなかったが、2,3',4,4',5-PeCB (#118)の内標準物質のピーク面積値が大きくなっていたことから、分析条件の検討の余地があると考えられた。

D. 結論

GC-(APCI)MS/MS によるダイオキシン類分析の感度は良好であり、50 g の食品試料を用いればガイドラインに示されている目標検出下限を十分に達成できると考えられた。一方で、認証標準試料を分析した結果、一部のダイオキシン類の分析値に問題が認められた。今後は分析条件について再検討の余地があると考えられる。

E. 参考文献

1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知“食品中のダイオキシン類測定方法暫定ガイドライン”平成 20 年 2 月 28 日，食安監発第 0228003 号
2) COMMISSION REGULATION (EU) No 589/2014 of 2 June 2014, laying down methods of sampling and analysis for the control of levels of dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in certain foodstuffs and repealing Regulation (EU) No 252/2012
3) Franchina FA, Lazzari E, Scholl G, Focant J-F. : Assessment of a New GC-MS/MS System for the Confirmatory Measurement of PCDD/Fs and (N)DL-PCBs in Food under EU Regulation. Foods, 8(8), 302 (2019)
4) Lyu B, Zhang X, Li J, Zhang L, Zhong, Y, Wu Y. : Determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and furans in food samples by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS) and comparison with gas chromatography-high resolution mass spectrometry (GC-HRMS). Journal of Food Composition and Analysis, 115, 104947 (2023)
5) 令和 4 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金研究報告書「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のための研究」分担研究報告書（GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の研究）
6) 令和 5 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金研究報告書「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のための研究」分担研究報告書（GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の研究）
7) 令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金研究報告書「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のための研究」分担研究報告書（GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の研究）
8) van Bavel B, Geng D, Cherta L, Nácher-Mestre J, Portolés T, Ábalos M, Sauló J, Abad E, Dunstan J, Jones R, Kotz A, Winterhalter H, Malisch R, Traag W, Hagberg J, Ericson Jogsten I, Beltran J, Hernández F. : Atmospheric-Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry (APGC/MS/MS) an Alternative to High-Resolution Mass Spectrometry (HRGC/HRMS) for the Determination of Dioxins. Anal. Chem., 87, 9047-9053 (2015)
9) ten Dam G, Cabreira Pussente I, Scholl G, Eppe G, Schaechtele A, van Leeuwen S. : The performance of atmospheric pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry compared to gas chromatography-high resolution mass spectrometry for the analysis of polychlorinated dioxins and polychlorinated biphenyls in food and feed samples. Journal of Chromatography A, 1477, 76-90 (2016)

F.研究業績

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

表 1 検量線用標準溶液の組成と濃度

表1-1) PCDD/PCDFs

化合物			濃度 (ng/mL)				
			Conc.1	Conc.2	Conc.3	Conc.4	Conc.5
分析対象物質	PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	0.01	0.05	0.2	1	5
		1,2,3,7,8-PeCDD	0.01	0.05	0.2	1	5
		1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.02	0.1	0.4	2	10
		OCDD	0.05	0.25	1	5	25
	PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	0.01	0.05	0.2	1	5
		1,2,3,7,8-PeCDF	0.01	0.05	0.2	1	5
		2,3,4,7,8-PeCDF	0.01	0.05	0.2	1	5
		1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		OCDF	0.05	0.25	1	5	25
内標準物質 (クリーンアップスパイク)	PCDDs	$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDD	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDD	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDD	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDD	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDD	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-OCDD	4	4	4	4	4
	PCDFs	$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDF	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDF	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-PeCDF	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDF	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDF	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDF	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-2,3,4,6,7,8-HxCDF	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2	2	2	2	2
		$^{13}C_{12}$-OCDF	4	4	4	4	4
内標準物質 (シリジンスパイク)		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4-TeCDD	2	2	2	2	2

表1-2) Co-PCBs

化合物			濃度 (ng/mL)					
			Conc.1	Conc.2	Conc.3	Conc.4	Conc.5	Conc.6
分析対象物質	ノンオルトPCBs	3,3',4,4'-TeCB (#77)	0.05	0.2	1	10	50	200
		3,4,4',5-TeCB (#81)	0.05	0.2	1	10	50	200
		3,3',4,4',5-PeCB (#126)	0.05	0.2	1	10	50	200
		3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	0.05	0.2	1	10	50	200
	モノオルトPCBs	2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3,4,4',5-PeCB (#114)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3',4,4',5-PeCB (#118)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2',3,4,4',5-PeCB (#123)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3,3',4,4'5-HxCB (#156)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3,3',4,4'5'-HxCB (#157)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	0.05	0.2	1	10	50	200
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	0.05	0.2	1	10	50	200
内標準物質 (クリーンアップスパイク)	ノンオルトPCBs	$^{13}C_{12}$-3,3',4,4'-TeCB (#77)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-3,4,4',5-TeCB (#81)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5-PeCB (#126)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	5	5	5	5	5	5
	モノオルトPCBs	$^{13}C_{12}$-2,3,3'4,4'-PeCB (#105)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3,4,4',5-PeCB (#114)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3',4,4',5-PeCB (#118)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2',3,4,4',5-PeCB (#123)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	5	5	5	5	5	5
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	5	5	5	5	5	5
内標準物質 (シリジンスパイク)		$^{13}C_{12}$-3,3',4,5'-TeCB (#79)	5	5	5	5	5	5

表 2 ダイオキシン類測定の SRM 条件

表2-1）PCDD/PCDFs

化合物			定量イオン		定性イオン	
			SRM transition *(m/z)*	CE (eV)	SRM transition *(m/z)*	CE (eV)
分析対象物質	PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	319.9 > 256.9	29	321.9 > 258.9	29
		1,2,3,7,8-PeCDD	355.9 > 292.9	31	353.9 > 290.9	31
		1,2,3,4,7,8-HxCDD	389.8 > 326.9	32	391.8 > 328.8	32
		1,2,3,6,7,8-HxCDD				
		1,2,3,7,8,9-HxCDD				
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	423.8 > 360.8	32	425.8 > 362.8	32
		OCDD	457.7 > 394.8	32	459.7 > 396.8	32
	PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	303.9 > 240.9	37	305.9 > 242.9	37
		1,2,3,7,8-PeCDF	339.9 > 276.9	39	337.9 > 274.9	39
		2,3,4,7,8-PeCDF				
		1,2,3,4,7,8-HxCDF	373.8 > 310.9 (373.8 > 310.9)*	39	375.8 > 312.9 (371.8 > 308.9)	39
		1,2,3,6,7,8-HxCDF				
		1,2,3,7,8,9-HxCDF				
		2,3,4,6,7,8-HxCDF				
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	407.8 > 344.8	39	409.8 > 346.8	39
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF				
		OCDF	441.7 > 378.8	40	443.7 > 380.8	40
内標準物質（クリーンアップスパイク）	PCDDs	$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDD	331.9 > 268.0	29	333.9 > 270.0	29
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDD	367.9 > 303.9	31	365.9 > 301.9	31
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDD	401.9 > 337.9	32	403.9 > 339.9	32
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDD				
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDD				
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	435.8 > 371.8	32	437.8 > 373.8	32
		$^{13}C_{12}$-OCDD	469.8 > 405.8	32	471.8 > 407.8	32
	PCDFs	$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TeCDF	315.9 > 252.0	37	317.9 > 254.0	37
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDF	351.9 > 287.9	39	349.9 > 285.9	39
		$^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-PeCDF				
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDF	385.9 > 321.9	39	383.9 > 319.9	39
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDF				
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDF				
		$^{13}C_{12}$-2,3,4,6,7,8-HxCDF				
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	419.8 > 355.9	39	421.8 > 357.9	39
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF				
		$^{13}C_{12}$-OCDF	453.8 > 389.8	40	455.8 > 391.8	40
内標準物質（シリンジスパイク）		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4-TeCDD	331.9 > 268.0	29	333.9 > 270.0	29

＊ RH-12ms測定時のモニターイオン

表2-2) Co-PCBs

化合物			定量イオン		定性イオン	
			SRM transition *(m/z)*	CE (eV)	SRM transition *(m/z)*	CE (eV)
分析対象物質	ノンオルトPCBs	3,3',4,4'-TCB (#77)	289.9 > 219.9	34	291.9 > 221.9	34
		3,4,4',5-TCB (#81)				
		3,3',4,4',5-PeCB (#126)	323.9 > 253.9	34	325.9 > 255.9	34
		3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	359.9 > 289.9	36	357.9 > 287.9	36
	モノオルトPCBs	2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	323.9 > 253.9	34	325.9 > 255.9	34
		2,3,4,4',5-PeCB (#114)				
		2,3',4,4',5-PeCB (#118)				
		2',3,4,4',5-PeCB (#123)				
		2,3,3',4,4'5-HxCB (#156)	359.9 > 289.9	36	357.9 > 287.9	36
		2,3,3',4,4'5'-HxCB (#157)				
		2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)				
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	393.9 > 323.9	39	395.8 > 325.9	39
内標準物質（クリーンアップスパイク）	ノンオルトPCBs	$^{13}C_{12}$-3,3',4,4'-TCB (#77)	301.9 > 231.9	34	303.9 > 233.9	34
		$^{13}C_{12}$-3,4,4',5-TCB (#81)				
		$^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5-PeCB (#126)	335.9 > 265.9	34	337.9 > 267.9	34
		$^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	371.9 > 301.9	36	369.9 > 299.9	36
	モノオルトPCBs	$^{13}C_{12}$-2,3,3'4,4'-PeCB (#105)	335.9 > 265.9	34	337.9 > 267.9	34
		$^{13}C_{12}$-2,3,4,4',5-PeCB (#114)				
		$^{13}C_{12}$-2,3',4,4',5-PeCB (#118)				
		$^{13}C_{12}$-2',3,4,4',5-PeCB (#123)				
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	371.9 > 301.9	36	369.9 > 299.9	36
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)				
		$^{13}C_{12}$-2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)				
		$^{13}C_{12}$-2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	405.9 > 335.9	39	407.8 > 337.9	39
内標準物質（シリンジスパイク）		$^{13}C_{12}$-3,3',4,5'-TCB (#79)	301.9 > 231.9	34	303.9 > 233.9	34

表 3 検量線用標準溶液の RRF 及び RRFss

表3-1）PCDD/PCDFs

PCDD/PCDFs		RRF 平均値	RRF変動係数 (%)	RRFss 平均値	RRFss変動係数 (%)
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	1.070	6.0	1.225	4.5
	1,2,3,7,8-PeCDD	1.056	4.2	1.081	4.1
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.896	2.8	0.915	3.5
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.988	4.8	0.885	5.3
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.965	3.5	0.858	4.7
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1.107	2.9	0.581	4.4
	OCDD	1.086	3.2	0.330	4.5
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	1.015	4.6	1.382	5.5
	1,2,3,7,8-PeCDF	1.153	5.2	1.127	4.3
	2,3,4,7,8-PeCDF [1)]	1.092	7.0	1.166	6.0
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.048	5.3	0.870	3.8
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.022	4.7	0.903	5.1
	1,2,3,7,8,9-HxCDF [1)]	0.983	5.1	1.010	5.1
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.950	4.4	0.976	4.2
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.052	4.4	0.698	6.6
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.014	6.5	0.438	10.1
	OCDF	1.019	4.9	0.319	4.6

1) RH-12ms測定データ

表3-2) Co-PCBs

Co-PCBs		RRF 平均値	RRF変動係数 (%)	RRFss 平均値	RRFss変動係数 (%)
ノンオルトPCBs	3,3',4,4'-TeCB(#77)	1.111	3.7	0.920	7.2
	3,4,4',5-TeCB(#81)	1.092	3.3	0.910	8.0
	3,3',4,4',5-PeCB(#126)	1.092	3.9	0.636	7.8
	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	1.045	3.6	0.576	5.2
モノオルトPCBs	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	1.040	2.7	0.740	8.1
	2,3,4,4',5-PeCB(#114)	1.040	3.3	0.691	7.0
	2,3',4,4',5-PeCB(#118)	1.065	3.7	0.692	7.8
	2',3,4,4',5-PeCB(#123)	1.026	2.8	0.742	6.8
	2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	1.024	3.5	0.637	5.6
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	1.013	3.0	0.684	5.0
	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	1.086	4.8	0.631	5.2
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	1.004	4.3	0.506	7.9

表 4 試料測定時の LODs 及び LOQs

表4-1）PCDD/PCDFs

PCDD/PCDFs		LODs[1)] (pg/g)	LOQs[1)] (pg/g)	目標検出下限[2)] (pg/g)
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	0.001	0.002	0.01
	1,2,3,7,8-PeCDD	0.001	0.003	0.01
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.001	0.003	0.02
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.002	0.008	0.02
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.002	0.006	0.02
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.002	0.006	0.02
	OCDD	0.004	0.012	0.05
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	0.001	0.002	0.01
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.001	0.003	0.01
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.001	0.004	0.01
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.001	0.004	0.02
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.001	0.004	0.02
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.002	0.007	0.02
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.001	0.004	0.02
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.002	0.005	0.02
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.002	0.007	0.02
	OCDF	0.003	0.011	0.05

1)食品試料50 g使用時
2)食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン（平成20年2月）

表4-2) Co-PCBs

Co-PCBs		LODs[1)] (pg/g)	LOQs[1)] (pg/g)	目標検出下限[2)] (pg/g)
ノンオルトPCBs	3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.002	0.008	0.1
	3,4,4',5-TeCB(#81)	0.002	0.006	0.1
	3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.002	0.007	0.1
	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.002	0.007	0.1
モノオルトPCBs	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	0.04	0.13	1
	2,3,4,4',5-PeCB(#114)	0.02	0.08	1
	2,3',4,4',5-PeCB(#118)	0.05	0.17	1
	2',3,4,4',5-PeCB(#123)	0.04	0.13	1
	2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	0.04	0.14	1
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	0.03	0.11	1
	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	0.04	0.13	1
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	0.09	0.31	1

1)食品試料50 g使用時
2)食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン（平成20年2月）

表 5 認証標準試料(WMF-01)の分析結果

ダイオキシン類	認証値(参考値) pg/g	GC-(APCI)MS/MS pg/g
2,3,7,8-TeCDD	13.1 ± 4.4	14
1,2,3,7,8-PeCDD	2.72 ± 1.3	2.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.22 *[1)] ± 0.3	0.13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.88 ± 0.4	0.93
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.27 * ± 0.4	0.074
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.59 * ± 0.7	0.21
OCDD	3.91 * ± 6.2	0.61
2,3,7,8-TeCDF	13.1 ± 4.9	14
1,2,3,7,8-PeCDF	1.53 * ± 1.4	0.96
2,3,4,7,8-PeCDF	7.15 ± 2.2	7.2
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.86 * ± 1.0	0.54
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.51 * ± 0.7	0.27
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.25 * ± 0.4	– [2)]
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.68 * ± 1.2	0.25
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.01 * ± 1.9	0.12
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.30 * ± 0.5	–
OCDF	1.38 * ± 2.1	tr[3)]
3,3',4,4'-TeCB(#77)	2,233 ± 720	1,832
3,4,4',5-TeCB(#81)	201 ± 58	200
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	739 ± 260	757
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	76 ± 30	73
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	49,050 ± 14,200	46,083
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	3,523 ± 1,670	4,093
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	130,100 ± 32,500	27,674
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	4,233 ± 2,620	4,138
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	14,890 ± 5,020	16,136
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	3,488 ± 870	4,337
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	9,750 ± 3,090	10,785
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	2,016 ± 611	2,309

1) ＊は参考値
2) LODs未満
3) tr: trace (LOD≦tr＜LOQ)

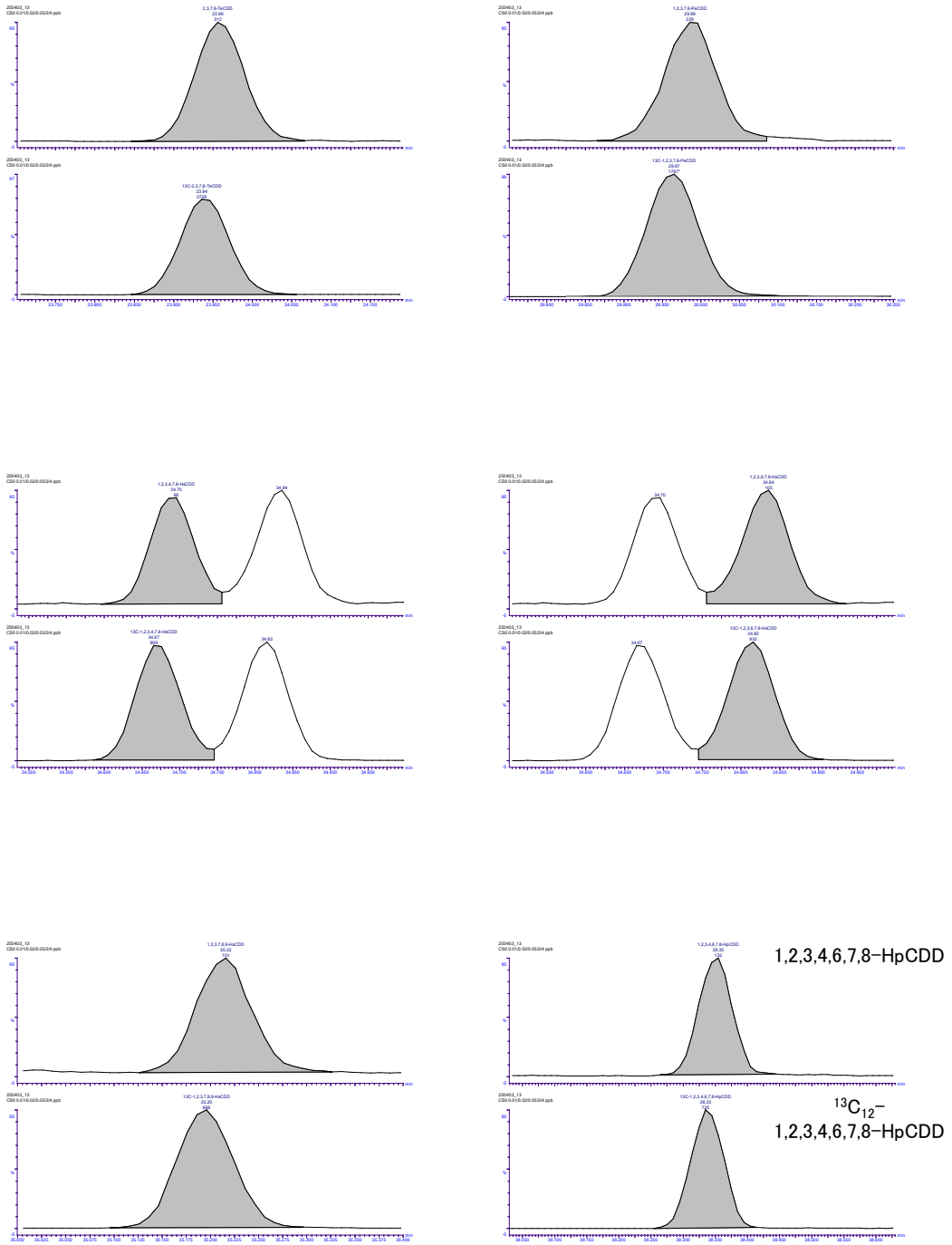


図 1　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）

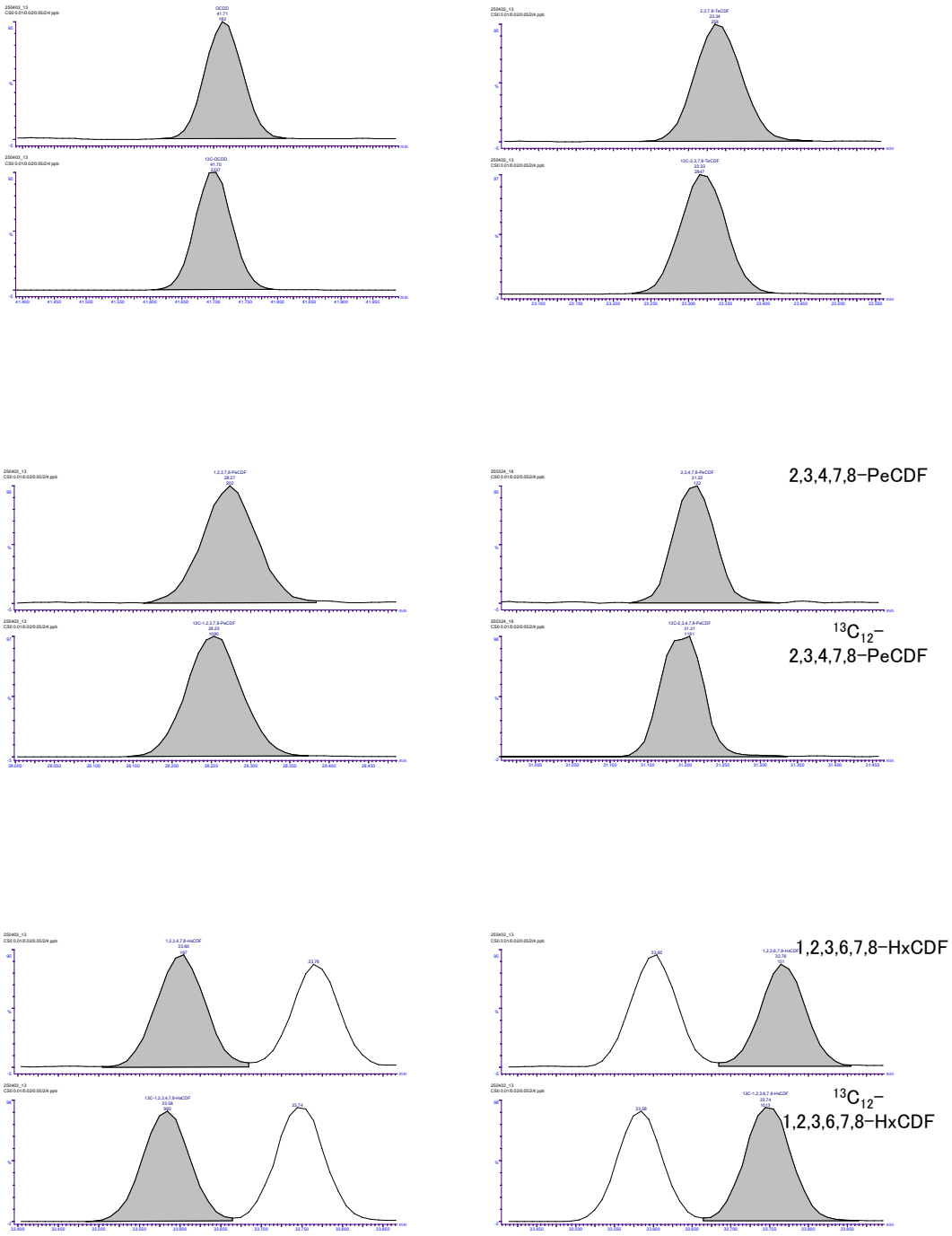


図 1　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

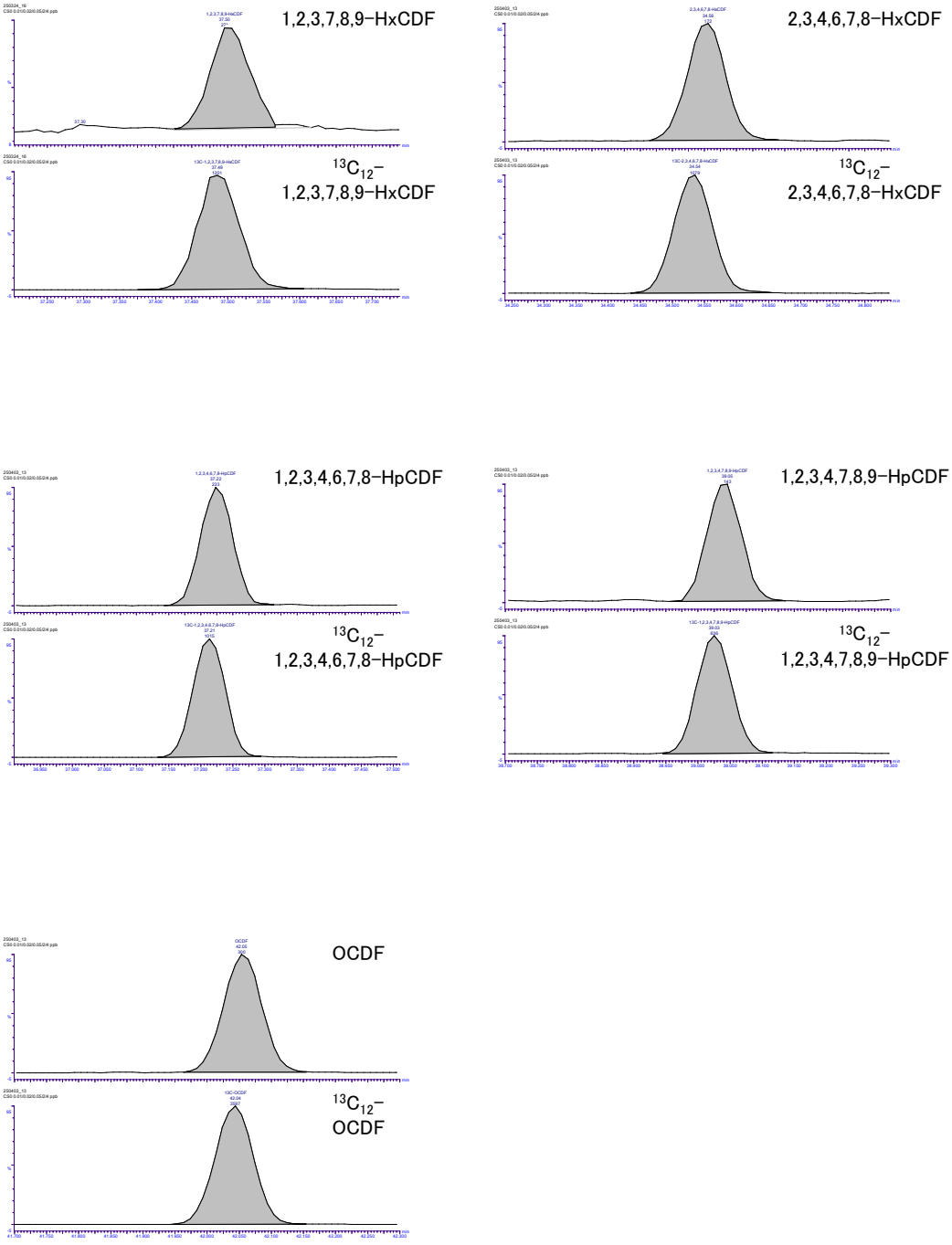


図 1　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（PCDD/PCDFs）（つづき）

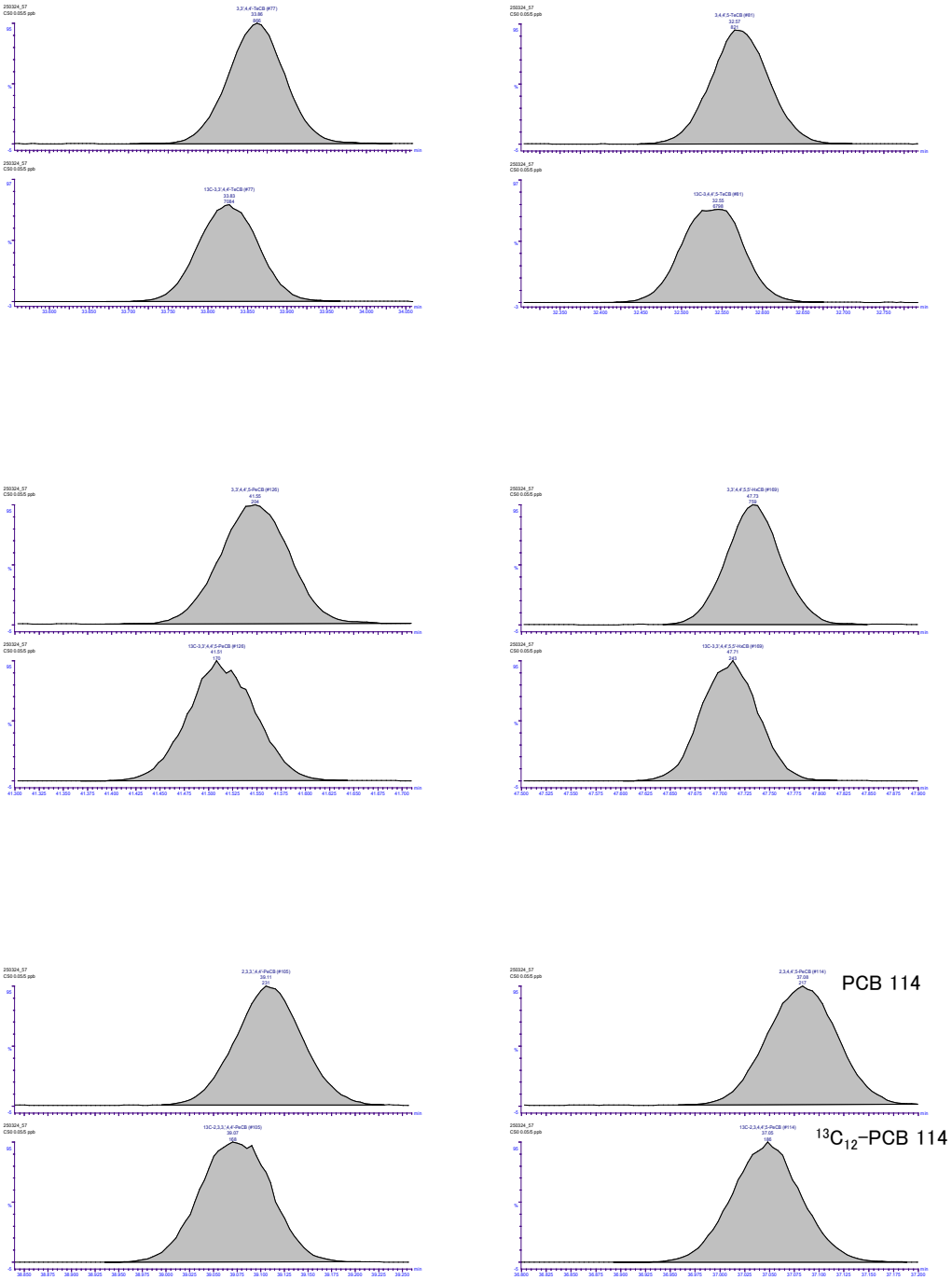


図 2　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

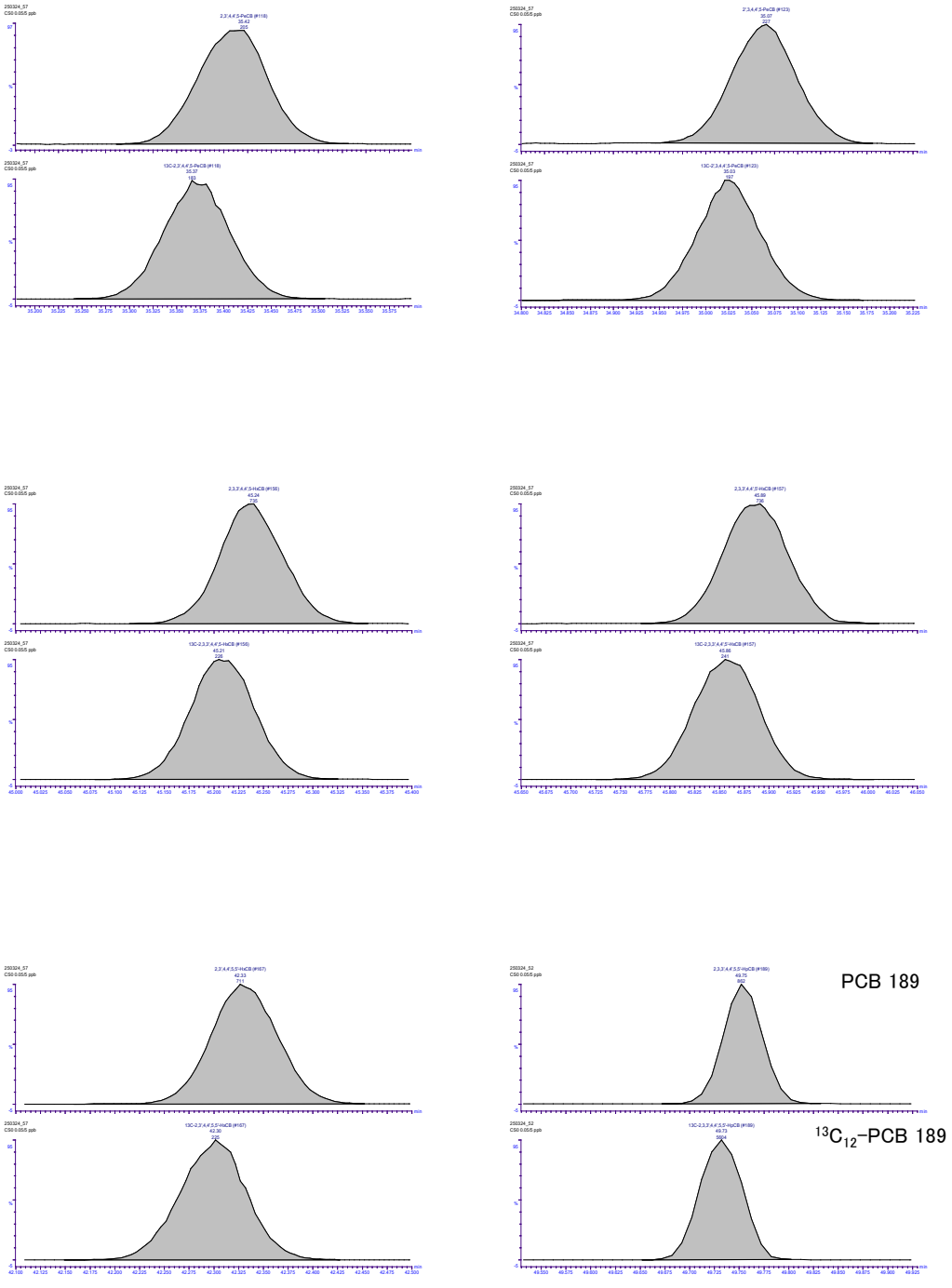


図 2 検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

Ⅱ．分担研究報告書

(3)有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-2)LC-MS/MS による食品中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の分析法の検討

研究分担者　堤　智昭

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

(3)有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究
(3-2)LC-MS/MS による食品中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の分析法の検討

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

ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤（BT）は、有毒性、難分解性、蓄積性及び長距離移動性を有し、健康への影響が懸念されている。近年、新たに国際条約（POPs条約）の規制対象物質への追加が採択されたBTもあり、わが国においても、当該BTを第一種特定化学物質として指定する旨の政令が施行された。そこで、本研究では、食品中のBTのリスク管理の必要性を検討することを目的として、食品中のBTの汚染実態や摂取量推定に必要となる分析法の開発を進めている。前年度はLC-MS/MSを用いたBT分析法の前処理法を検討し、魚試料4種を対象とした添加回収試験を実施した。本年度は開発した分析法の適用性を検証するため、貝試料を含む他の魚介類試料及びトータルダイエット試料のうち第10群（魚介類）試料を対象とした添加回収試験を実施した。前年度同様、試料をメタノールで抽出し、*n*-ヘキサンと2 w/v%塩化ナトリウム溶液を加えて液-液分配した後、5%含水シリカゲルカラムとフロリジルミニカラムで精製した。測定条件として分析カラムにODSカラムを、移動相に蒸留水、メタノール及び5 mMギ酸アンモニウム溶液を用いたステップワイズ法で、イオン化はESIのポジティブモードを用いた。魚介類試料7食品を対象とした添加回収試験を行った結果、9種のBTで良好な真度（72.9%～119.4%）と併行精度（<12.2%）が認められた。第10群（魚介類）試料を対象とした添加回収試験では、8種のBTで良好な真度（77.7%～117.1%）が認められた。本法による試料中の定量限界値は0.4 ng/gであった。また、添加回収試験にて良好な結果を得られたBTについて、魚介類試料及び第10群（魚介類）試料中の含量を測定した結果は、カキ試料にUV-328 (0.6 ng/g)の検出が確認された。その他、すべて定量限界値未満であった。

研究協力者

埼玉県衛生研究所

中代智菜美、今井　浩一

A. 研究目的

紫外線吸収剤は、紫外線による劣化を防ぐ目的として塗料やプラスチック製品等に使用されている。特に、ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤（BT）は、紫外線吸収能力が優れており、世界的に広く使用されている。

2023 年 5 月には 2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4,6-ジ-*tert*-ペンチルフェノール（UV-328）が生物や環境に悪影響を与える懸念があるとして、国際条約（POPs 条約）の規制対象物質への追加が採択された [1)]。わが国においても、2025 年 2 月に化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）において第一種特定化学物質として指定する旨の政令が施行された [2)]。

わが国では UV-328 以外にも、2-(2H-1,2,3-

ベンゾトリアゾール-2-イル)-4,6-ジ-*tert*-ブチルフェノール(UV-320)が難分解性、高蓄積性及び長期毒性があるとして、化審法の第 1 種特定化学物質に指定され、その製造、輸入及び使用が原則禁止されている[3]。また、2,4-ジ-*tert*-ブチル-6-(5-クロロ-2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)フェノール(UV-327)及び 2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-6-(ブタン-2-イル)-4-*tert*-ブチルフェノール(UV350)が同法の監視化学物質に指定され、製造、輸入数量及び用途を毎年届け出る義務が生じている[4]。UV-328、UV-320、UV-327 及び UV-350 以外の BT は、これら 4 化合物に類似した化学構造を有するにもかかわらず、使用や製造に関しての規制はない。

BT の毒性について、UV-320 が PPARα シグナルを介して肝毒性を誘発することが報告されている[5]。未規制の BT についても、類似した物理化学的な性質を有し、同様の毒性を持つ可能性があり、河川水、海水や食品、特に魚介類の汚染が懸念されている。さらに、ヒト母乳中から BT を検出したという報告もあり[6),7)]、食品中からの暴露も懸念されるが、BT によるヒトへの健康影響評価や汚染実態についての詳細は、まだ解明されていない。

有害物質の摂取量低減の施策等によるリスク管理を検討するためには、実態調査や摂取量推定は欠かせない。河川水及び底質の BT 汚染実態については多数報告されているが[8)~13)]、魚介類の BT 汚染実態については報告が少ない[14)~18)]。また、これらの報告では UV-320、UV-327 及び UV-328 を主として 4 化合物程度を分析対象としている場合が多く、多数ある BT を網羅していない。

本研究では魚介類等の食品中の BT のリスク管理の必要性を検討することを目的として、魚介類を対象とした LC-MS/MS を用いた BT 分析法について検討する。本年度は分析法の適用性を検証するため、貝試料を含む他の魚介類試料及びトータルダイエット(TD)試料のうち第 10 群(魚介類)試料を対象とした添加回収試験を実施するとともに、試料中の含量を測定した。

B. 研究方法

1. 分析対象化合物

本検討では、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4-メチルフェノール(UV-P)、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4-tert-ブチルフェノール(UV-PS)、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4-メチル-6-(プロパ-2-エン-1-イル)フェノール(UV-9)、2-[3-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4-ヒドロキシフェニル]エチル 2-メチルプロパ-2-エノアート(UV-090)、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4,6-ビス(2-フェニルプロパン-2-イル)フェノール(UV-234)、UV-320、2-(tert-ブチル)-4-メチル-6-(5-クロロ-2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)フェノール(UV-326)、UV-327、UV-328、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4-tert-オクチルフェノール(UV-329)、UV-350、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-6-{[3-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-2-ヒドロキシ-5-(2,4,4-トリメチルペンタン-2-イル)フェニル]メチル}-4-(2,4,4-トリメチルペンタン-2-イル)フェノール(UV-360)及び 2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-6-(2-フェニルプロパン-2-イル)-4-(2,4,4-トリメチルペンタン-2-イル)フェノール(UV-928)の全 13 化合物(図 1)を分析対象とした。

2. 試薬

1) 標準品

UV-P:純度 100.0%(AccuStandard 製)
UV-PS:純度 100.0%(AccuStandard 製)
UV-9:純度 100.0%(AccuStandard 製)
UV-090:純度 99.79%(Toronto Research Chemicals 製)
UV-234:純度 99.9%(AccuStandard 製)
UV-320:純度 100.0%(AccuStandard 製)
UV-326:純度 100.0%(富士フィルム和光純薬製)

UV-327：純度 100.0%（AccuStandard 製）
UV-328：純度 98.0%（AccuStandard 製）
UV-329：純度 98.0%（AccuStandard 製）
UV-350：純度 97.52%（Toronto Research Chemicals 製）
UV-360：純度 98%（Toronto Research Chemicals 製）
UV-928：純度 98%（BLD pharm 製）
UV-P d_3：純度 99.6%（林純薬工業製）
UV-PS d_4：純度 99.7%（ASCA GmbH 製）
UV-234 d_4：純度 99.7%（ASCA GmbH 製）
UV-320 d_4：純度 99.8%（ASCA GmbH 製）
UV-326 d_3：純度 98.9%（林純薬工業製）
UV-327 d_3：純度 99.8%（ASCA GmbH 製）
UV-328 d_4：純度 99.8%（ASCA GmbH 製）
UV-329 d_4：純度 98.0%（ASCA GmbH 製）
UV-350 d_4：純度 99.4%（ASCA GmbH 製）
UV-928 d_4：純度 98.9%（ASCA GmbH 製）

2）その他試薬

アセトン：残留農薬試験・PCB 試験用（関東化学製）
n-ヘキサン：残留農薬試験・PCB 試験用（関東化学製）
酢酸エチル：残留農薬試験・PCB 試験用（関東化学製）
塩化ナトリウム：試薬特級（富士フィルム和光純薬製）
5%含水シリカゲル：環境分析用（富士フィルム和光純薬製）
フロリジルミニカラム：InertSep FL-PR 2 g/12 mL（GL Sciences 製）
メタノール：HPLC 用（関東化学製）
蒸留水：HPLC 用（関東化学製）
ギ酸アンモニウム：特級（富士フィルム和光純薬製）

3. 標準原液・標準溶液の調製

UV-360 以外の標準原液：各標準品 20 mg を精秤し、アセトンで溶解して 1000 mg/L 溶液を調製した。
UV-360 標準原液：標準品 20 mg を精秤し、アセトンで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。
安定同位体標識化合物標準原液：各標準品 2.5 mg～5 mg を精秤し、アセトンで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。
検量線用混合標準溶液：各標準原液をメタノールで適宜希釈し、0.02 µg/L～1 µg/L の混合標準溶液を調製した。この混合標準溶液には、定容前に内標準物質として安定同位体標識化合物を 0.4 µg/L となるように添加して調製した。
添加用混合標準溶液：各標準原液をメタノールで適宜希釈して、20 µg/L 混合標準溶液を調製した。
添加回収試験用混合標準溶液：各標準原液をメタノールで適宜希釈して、2 µg/L 混合標準溶液を調製した。この混合標準溶液には、定容前に内標準物質として安定同位体標識化合物を 20 µg/L となるように添加して調製した。
安定同位体標識化合物混合標準溶液：各安定同位体標識化合物標準原液をメタノールで適宜希釈して 20 µg/L 混合溶液を調製した。

4. 試料

魚介類試料は、関東地区のスーパーマーケットで購入した。

試料のうち魚試料は筋肉部を採取し、貝試料、頭足類及びエビは軟組織を採取して細切均一化した。詳細は表 1 の通りである。

また、今年度に埼玉県衛生研究所にて調製した TD 試料のうち第 10 群（魚介類）試料 3 種（X-1、X-2 及び X-3）を使用した。TD 試料 － 第 10 群（魚介類）試料の調製については、食品分類表の小分類ごとに、1 日摂取量の 15 倍を分別量とした。X-1、X-2 及び X-3 では可能な限りそれぞれ異なる食品を調達し、困難な場合は産地の異なるものを調達した。なお、小分類の中で 2 食品を調達可能な場合は、その分別量を任意の重量に分割し、各分別量とした。それぞれの食品の各分別量を秤取し、調理が必要

な食品については調理を行い、調理後重量を記録して混合し、TD 試料 － 第 10 群試料（X-1、X-2 及び X-3）とした。詳細は表 2-1～表 2-3 の通りである。

5. 機器

LC：ACQUITY Premier（Waters 製）
MS/MS：Xevo TQ-XS（Waters 製）
データ処理：MassLynx Ver.4.2（Waters 製）

6. LC-MS/MS 測定

1） LC 条件

カラム：UHPLC PEEK Column InertSustain C18（GL Sciences 製）
（内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μm）
移動相流速：0.2 mL/min
注入量：5 μL
カラム温度：40℃
移動相：
A 液：蒸留水
B 液：メタノール
C 液：5 mM ギ酸アンモニウム溶液

時間（分）	A（%）	B（%）	C（%）
0	9	90	1
27.0	9	90	1
27.1	0	99	1
60.0	0	99	1
60.1	9	90	1
67.0	9	90	1

測定時間：67 分

2） MS 条件

測定モード：選択反応モニタリング（SRM）
イオン化法：ESI（＋）
キャピラリー電圧：3.0 kV
イオン源温度：150℃
脱溶媒温度：500℃
コーンガス：窒素 150 L/hr
脱溶媒ガス：窒素 1000 L/hr
コリジョンガス：アルゴン 0.15 mL/min
定量イオン及び定性イオン：
UV－P：*m/z* 226→120［30 V/15 eV］
m/z 226→107［30 V/20 eV］
UV-PS：*m/z* 268→212［40 V/20 eV］
m/z 268→57 ［40 V/25 eV］
UV－9：*m/z* 266→119［40 V/20 eV］
m/z 266→91 ［40 V/30 eV］
UV-090：*m/z* 324→238［30 V/15 eV］
m/z 324→91 ［30 V/30 eV］
UV-234：*m/z* 448→119［40 V/30 eV］
m/z 448→370［40 V/20 eV］
UV-320：*m/z* 324→268［30 V/20 eV］
m/z 324→212［30 V/25 eV］
UV-326：*m/z* 316→260［30 V/20 eV］
m/z 318→262［30 V/20 eV］
UV-327：*m/z* 358→302［40 V/20 eV］
m/z 360→304［40 V/20 eV］
UV-328：*m/z* 352→282［30 V/20 eV］
m/z 352→71 ［30 V/25 eV］
UV-329：*m/z* 324→212［30 V/25 eV］
m/z 324→57 ［30 V/25 eV］
UV-350：*m/z* 324→268［30 V/20 eV］
m/z 324→212［30 V/25 eV］
UV-360：*m/z* 659→336［30 V/20 eV］
m/z 659→224［30 V/30 eV］
UV-928：*m/z* 442→364［30 V/25 eV］
m/z 442→252［30 V/30 eV］
UV－P d_3：*m/z* 229→120［30 V/15 eV］
m/z 229→110［30 V/20 eV］
UV-PS d_4：*m/z* 272→216［40 V/20 eV］
m/z 272→57 ［40 V/25 eV］
UV-234 d_4：*m/z* 452→374［40 V/20 eV］
m/z 452→119［40 V/30 eV］
UV-320 d_4：*m/z* 328→272［30 V/20 eV］
m/z 328→216［30 V/25 eV］
UV-326 d_3：*m/z* 319→263［30 V/20 eV］
m/z 321→265［30 V/20 eV］
UV-327 d_3：*m/z* 361→305［40 V/20 eV］
m/z 363→307［40 V/20 eV］
UV-328 d_4：*m/z* 356→286［30 V/20 eV］

m/z 356→71［30 V/25 eV］
UV-329 d_4: *m/z* 328→216［30 V/25 eV］
m/z 328→57［30 V/25 eV］
UV-350 d_4: *m/z* 328→272［30 V/20 eV］
m/z 328→216［30 V/25 eV］
UV-928 d_4: *m/z* 446→368［30 V/25 eV］
m/z 446→256［30 V/30 eV］
上段：定量イオン　下段：定性イオン
［コーン電圧/コリジョンエネルギー］

7. 検量線及び定量

検量線用混合標準系列は BT の濃度が 0.02 µg/L、0.04 µg/L、0.2 µg/L、0.4 µg/L 及び 1 µg/L、安定同位体標識化合物の濃度がそれぞれ 0.4 µg/L となるように標準原液をメタノールで希釈して調製した。安定同位体標識化合物を用いた内部標準法により検量線を作成した。なお、安定同位体標識化合物を入手できなかった UV-9、UV-090 及び UV-360 については、各保持時間や Log Pow が近似している UV-PS、UV-P 及び UV-328 でそれぞれ補正した。作成した検量線の相関係数が、0.995 以上であることを確認し、試験溶液中の BT の定量を行った。

8. 試験溶液の調製

1) 抽出

均一化した試料 5.0 g を遠心管に量り採り、安定同位体標識化合物がそれぞれ 4 ng/g となるように安定同位体標識化合物混合標準溶液を添加した。30 分間室温で放置したのち、メタノール 30 mL を加えてホモジナイズした後、毎分 3,500 回転で 5 分間遠心分離し、上清を分取した。残留物にメタノール 30 mL を加えて同様に操作し、得られた上清を合わせ、メタノールを加えて正確に 100 mL とした。この溶液から正確に 20 mL を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去した。これに *n*-ヘキサン 30 mL 及び 2 w/v%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加えて振とう抽出した後、*n*-ヘキサン層を分取した。残留物に *n*-ヘキサン 30 mL を加えて同様に操作し、*n*-ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウム 2 g を加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、40℃以下で約 1 mL まで濃縮した。この残留物に *n*-ヘキサン 1 mL を加えて溶解した。

2) 精製

① 5%含水シリカゲルカラム

コック付きの長さ 30 cm、内径 10 mm のガラスカラムに 5%含水シリカゲル 5 g を *n*-ヘキサンを用いて湿式充填し、上部に無水硫酸ナトリウム 1 g を積層した。このカラムに、*n*-ヘキサン 40mL を注入し、流出液は捨てた。これに、1)で得られた溶液を注入した後、10 vol%酢酸エチル含有 *n*-ヘキサン 100 mL で溶出させた。負荷液及び溶出液を合わせて40℃以下で約 1 mL まで濃縮した。この残留物に *n*-ヘキサン 1 mL を加えて溶解した。

② フロリジルミニカラム

InertSep FL-PR(2 g/12 mL)に *n*-ヘキサン 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに 2)①で得られた溶液を注入し、負荷液を捨てた後、5 vol%酢酸エチル含有 *n*-ヘキサン 25 mL で溶出させた。溶出液を 40℃以下で濃縮し、溶媒を除去した後、メタノールで正確に 10 mL としたものを試験溶液とした。

9. 添加回収試験

添加回収試験用混合標準溶液を試料(5.0 g)に添加し、B. 研究方法の 8. 試験溶液の調製(図 2)に従って添加回収試験を実施した。BT の添加濃度は、定量限界値濃度(0.4 ng/g)とした。安定同位体標識化合物の回収率は、添加回収試験溶液と添加相当濃度の溶媒希釈標準溶液のレスポンス比により算出した。また、ブランク試料から BT が定量された場合は、添加試料から定量値を差し引いて真度を求めた。

10. 試料中の含量の測定

添加回収試験にて良好な結果が得られた BT

について、添加回収試験を行った種類の試料を用いて、試料中の含量の測定を行った。

C. 研究結果及び考察

1. 添加回収試験

1) 魚介類試料

前年度は、アジ、サバ、タラ及びマグロの 4 種の魚試料を用いて添加回収試験(定量限界値濃度:0.4 ng/g)を実施した。今年度は、魚介類試料としてサーモン、タイ、ブリ、カキ、ホタテ、イカ及びエビを用いて、同様に実施した。また、操作ブランクとして、試料に蒸留水を用いて試験溶液を調製して測定した。

ブリ試料、カキ試料及びイカ試料の添加回収試験における操作ブランク、試料ブランク(未添加試料)、添加試料及び添加回収試験における回収率 100%相当の溶媒標準溶液の代表的なクロマトグラムを図 3～図 5 に示した。

① 選択性

UV-P、UV-326 及び UV-329 において、操作ブランクに定量限界値以上の面積値のピークが検出された。定性イオン／定量イオンの強度比も標準物質とおおよそ一致(80%～120%)しており、これらの BT は試験溶液調製操作によるコンタミネーションであると考えられた。そのため、この 3 種について本法で定量限界値 0.4 ng/g の分析を行うことは困難であった。UV-P は *n*-ヘキサン転溶、5%含水シリカゲルカラムによる精製及びフロリジルミニカラム精製、UV-326 は主に 5%含水シリカゲルカラム精製、UV-329 は *n*-ヘキサン転溶及びフロリジルミニカラム精製によりコンタミネーションしていた。本検討ではコンタミネーションを低減させる方法を検討したが、その改善まで検討することはできなかった。したがって、UV-P、UV-326 及び UV-329 を測定するためには、さらなる検討が必要であると考える。

UV-P、UV-326 及び UV-329 を除く BT については、同一保持時間にピークが認められても、定量限界値濃度に相当するピーク強度の 1/10 未満であったことから、選択性に問題はなかった。ただし、カキ試料において UV-328 のピークがブランク試料から検出されたため、選択性の評価は行えなかった。この点に関しては、UV-328 を含有していないカキブランク試料を用いて再度検討する必要があると考えられる。しかしながら、カキブランク試料において検出された UV-328 のピークは定性イオン/定量イオンの強度比が一致していた。さらに、他の魚介類試料において UV-328 のブランク試料における選択性に問題がないことからコンタミネーションによる影響は低いと考えられる。したがって、当該ピークはカキ試料から UV-328 が検出されたことによるものであると推察される。

② 真度、併行精度及び定量限界値

UV-360 については、前年度同様に良好な真度及び併行精度が得られなかった。

UV-P、UV-326、UV-329 及び UV-360 以外の 9 種の BT について、検討した魚介類試料における真度(n = 5)は 72.9%～119.4%、併行精度(RSD%)は 0.5%～12.2%で前年度の魚種同様に良好な結果が得られた(表 3-1 及び表 3-2)。定量限界値濃度での添加回収試験のクロマトグラムより算出した S/Nは、検討した何れの試料においても $S/N \geqq 10$ を満たしていた。また、安定同位体標識化合物の回収率は、54.8%～99.0%であった(表 4-1 及び表 4-2)。

2) TD 試料 － 第 10 群試料

表 2 に詳細を記した第 10 群試料 X-1、X-2 及び X-3 を用いて、添加回収試験(定量限界値濃度:0.4 ng/g)を実施した。実験 B. 研究方法の 8. 試験溶液の調製操作のうち、*n*-ヘキサン転溶時の振とう後にエマルジョンが発生し、静置後もヘキサン層を得るのが困難だった。したがって、エマルジョンを含むヘキサン層を採取し遠心分離する操作を追加して試験溶液の調製を実施した。

第 10 群試料 X-1 の添加回収試験における操

作ブランク、試料ブランク、添加試料及び添加回収試験における回収率 100%相当の溶媒標準溶液の代表的なクロマトグラムを図 6 に示した。

① 選択性

魚介類試料の添加回収試験で良好な結果が得られていた 9 種のうち、UV-PS について、分離困難な夾雑ピークが確認された(図 6 UV-PS 試料ブランク及び添加試料)。8 種の BT については、試料ブランクにおいて同一保持時間にピークが認められても、定量限界値濃度に相当するピーク強度の 1/10 未満であったことから、今回の定量限界値濃度における定量への影響は小さく、選択性に問題はないと考えた。

② 真度

8 種の BT について、検討した第 10 群 3 種類の試料における真度は、77.7%～117.1%で魚介類試料同様に良好な結果が得られた(表 5)。定量限界値濃度での添加回収試験のクロマトグラムより算出した *S/N*は、検討した何れの試料においても *S/N*≧10 を満たしていた。また、安定同位体標識化合物の回収率は、57.6%～88.0%であった(表 6)。

概ね良好な結果であったが、*n*-ヘキサン転溶時の振とう後にエマルジョンが発生していたため、夾雑成分を多く含む試料を分析する場合、転溶時の塩化ナトリウム溶液の濃度等の転溶条件の検討が必要であると考えられる。

10. 試料中の含量の測定

添加回収試験にて良好な結果が得られた BT について、添加回収試験を行った種類の試料を用いて、試料中の含量の測定を行った。

その結果、カキ試料において UV-328 が 0.6 ng/g 検出された(図 4 UV-328 試料ブランク)。その他、すべての試料において定量限界値以上の検出はなかった。しかしながら、操作ブランク以上かつ *S/N* 3 以上のピークが認められている試料もあり、その試料中に痕跡量の BT が含まれている可能性が示唆された(表 7 及び図 7)。マグロやブリ等の特定の魚種においては、BT を含有しているという報告もあることから[14)～18)]、必要に応じてより高感度な分析法を検討することが望ましい。

D. 結論

魚介類試料中の BT 分析法として、BT を試料からメタノールで抽出し、*n*-ヘキサンと 2 w/v%塩化ナトリウム溶液を加え、*n*-ヘキサン転溶した後、シリカゲルカラムとフロリジルミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量及び確認する方法を開発した。

定量限界値濃度(0.4 ng/g)での魚介類試料を用いた添加回収試験において検討した 13 種のうち 9 種の BT について、真度は 72.9%～119.4%、併行精度(RSD%)は 0.5%～12.2%であった。また、TD 試料第 10 群試料の添加回収試験において、8 種の BT について真度は 77.7%～117.1%であった。定量限界値濃度での添加回収試験のクロマトグラムより算出した *S/N* は、検討した何れの試料においても *S/N*≧10 を満たしていた。

本法を用いて試料中の含量を測定した結果、カキに UV-328 が 0.6 ng/g 検出された。その他すべての試料において定量限界値以上の検出はなかった。しかしながら、操作ブランク以上かつ *S/N*＞3 以上のピークが認められている試料もあり、その試料中に痕跡量の BT が含まれている可能性が示唆された。今後、実態調査を行うためには、必要に応じてより高感度な分析法を検討することが望ましい。さらに、BT はプラスチックやシリコン製品からの混入が考えられることから、操作ブランクからの BT の混入を低減させることが課題である。

E. 参考文献

1) Stockholm Convention Eleventh meeting of the Conference of the Parties to the Stockholm Convention https://chm.pops.int/TheConvention/Conf

erenceoftheParties/Meetings/COP11/tabid/9310/Default.aspx

2) 経済産業省「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律施行令の一部を改正する政令」が閣議決定されました https://www.meti.go.jp/press/2024/12/20241213002/20241213002.html

3) 経済産業省 化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 第 1 種特定化学物質一覧 https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/about/class1specified_chemicals_list_20250218r.pdf

4) 経済産業省 化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 監視化学物質一覧 https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/files/ippantou/monitoring_chemicals_list.pdf

5) M. Hirata-Koizumi *et al.*:Transcriptome analyses demonstrate that Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α (PPARα) activity of an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole, as possible mechanism of their toxicity and the gender differences. *The Journal of Toxicological Sciences*, **41**, 693-700, 2016

6) 中尾晃幸:科学研究費助成事業 2021 年度研究成果報告書 母乳摂取量から推定するベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤による乳児へのリスク評価

7) 中尾晃幸ほか:母乳に含まれるベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の解析とその汚染原調査. *第 2 回環境化学物質 3 学会合同大会要旨*, P-128, 2023

8) 吉識亮介 ほか:兵庫県内の河川および大気中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の汚染実態について. *環境化学*, **31**, 30-39, 2021

9) 西野貴裕 ほか:国内における化審法関連物質(ヘキサブロモシクロドデカン及びベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤)の共同実態調査【国立環境研究所Ⅱ型共同研究「国内における化審法関連物質の排出源および動態の解明」を通じて】. *環境化学*, **28**, 69-76, 2018

10) 木村久美子,西野貴裕:ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の分析法の検討,*第 24 回環境化学討論会要旨*, P-070, 2015

11) 栗原正憲,中田利明,飯村晃:手賀沼における底質中 HBCD 及び BUVs の鉛直分布調査. *第 25 回環境化学討論会要旨*, P-045, 2016

12) 津田泰三 ほか:GC/MS による水試料中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の定量法検討. *第 2 回環境化学討論会要旨*, P-126, 2017

13) 中尾晃幸 ほか:工業用紫外線吸収剤であるベンゾトリアゾール化合物による環境汚染実態について. *第 27 回環境化学討論会要旨*, 1B-08, 2018

14) 山口貴弘 ほか:魚介類中ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の汚染実態調査について. *大阪府立公衛研所報*, **52**, 35-40, 2014

15) H. Nakata, S. Murata and J. Filatreau: Occurrence and concentrations of benzotriazole UV stabilizers in marine organisms and sediments from the Ariake Sea, Japan. *Environmental Science & Technology*, **43**, 6920-6926,2009

16) 津田泰三 ほか:GC/MS/MS による生物試料中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の定量法検討. *第 25 回環境化学討論会要旨*, P-115, 2016

17) 西野貴裕:環境研究総合推進費 終了研究成果報告書 5-1954(Ⅱ-2)国内水環境における生活由来物質の蓄積実態解明、底生生物に対するリスクの評価

18) 堤智昭:厚生労働科学研究補助金(食の安心・安全確保推進研究事業)平成 21 年度分

担研究報告書 (2-4)食品中ベンゾトリアゾール類の迅速測定法の開発

F. 研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 中代智菜美、今井浩一、堤 智昭:LC-MS/MS による魚試料中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の一斉分析法の検討. 第 120 回日本食品衛生学会学術講演会(2024.11).

表 1 魚介類試料

小分類	試料	
あじ、いわし類	アジ A	真アジ
	アジ B	真アジ
	サバ A	真サバ
	サバ B	真サバ
さけ、ます	サーモン A	アトランサーモン
	サーモン B	サーモントラウト
たい、かれい類	タイ A	真ダイ
	タイ B	真ダイ
	タイ C	真ダイ
	タラ A	真ダラ
	タラ B	真ダラ
まぐろ、かじき類	マグロ A	キハダマグロ
	マグロ B	クロマグロ（赤身）
	マグロ C	クロマグロ
	マグロ D	メバチマグロ
	マグロ E	メバチマグロ（赤身）
	マグロ F	メバチマグロ（赤身）
	マグロ G	メバチマグロ（中トロ）
その他の生魚	ブリ A	ブリ A
	ブリ B	ブリ B
	ブリ C	ブリ C
	ブリ D	ブリ D
	ブリ E	ブリ E
	ブリ F	ブリ F
貝類	カキ	カキ
	ホタテ	ホタテ（貝柱）
いか、たこ類	イカ	イカ（ソデイカ）
えび、かに類	エビ	エビ（バナメイエビ）

表 2-1 TD 試料 - 第 10 群(魚介類)試料 X-1

小分類		一日摂取量(g)	分別量(g)	各分別量(g)	X-1		
番号					食品名	調理	調理後重量(g)
48	あじ、いわし類	7.80	117.0	60.0	さば(しめさば)		60.0
				57.0	さんま	焼く	48.2
49	さけ、ます	5.20	78.0	39.0	しろさけ(秋鮭)	焼く	34.0
				39.0	べにざけ	焼く	32.2
50	たい、かれい類	3.80	57.0	30.0	こもちがれい	焼く	26.2
				27.0	まだら	焼く	23.8
51	まぐろ、かじき類	5.40	81.0	42.0	めばちまぐろ		42.0
				39.0	かつお		39.0
52	その他の生魚	5.00	75.0	39.0	いさき	焼く	33.0
				36.0	ぶり		36.0
53	貝類	3.20	48.0	24.0	つぶがい		24.0
				24.0	ほたて貝柱		24.0
54	いか、たこ類	2.70	40.5	21.0	まだこ		21.0
				19.5	ほや		19.5
55	えび、かに類	3.40	51.0	27.0	あまえび	焼く	26.4
				24.0	ずわいがに		24.0
56	塩蔵、生干し、乾物	15.80	237.0	120.0	まあじ(開き干し)	焼く	114.8
				117.0	ちりめん		117.0
57	缶詰	3.10	46.5	22.5	いわしかば焼き缶詰		22.5
				24.0	さば水煮缶詰		24.0
58	佃煮	0.20	3.0	3.0	佃煮あみ		3.0
59	練り製品	7.00	105.0	60.0	はんぺん		60.0
				45.0	かに風味かまぼこ		45.0
60	魚肉ハム、ソーセージ	0.62	9.3	9.3	魚肉ソーセージ		9.3
計		63.22	948.3	948.3			908.9

1 日摂取量:2017-2019 年国民健康・栄養調査 結果表(関東Ⅰ)による量(日常食の構成による)
調理後重量:調理により変化した後の重量

表 2-2 TD 試料 - 第 10 群(魚介類)試料 X-2

小分類		一日摂取量(g)	分別量(g)	各分別量(g)	X-2		
番号					食品名	調理	調理後重量(g)
48	あじ、いわし類	7.80	117.0	60.0	しめさば		60.0
				57.0	小あじ	焼く	48.0
49	さけ、ます	5.20	78.0	39.0	銀ざけ(刺身用)		39.0
				39.0	大西洋さけ(アトランティックサーモン)	焼く	33.7
50	たい、かれい類	3.80	57.0	30.0	子持ちカレイ	焼く	27.0
				27.0	まだい	焼く	19.9
51	まぐろ、かじき類	5.40	81.0	42.0	カツオ		42.0
				39.0	めばちまぐろ		39.0
52	その他の生魚	5.00	75.0	39.0	さわら	焼く	33.7
				36.0	ぶり		36.0
53	貝類	3.20	48.0	24.0	かき	ゆでる	13.0
				24.0	あさり	ゆでる	15.3
54	いか、たこ類	2.70	40.5	21.0	あかいか		21.0
				19.5	するめいか		19.5
55	えび、かに類	3.40	51.0	27.0	ブラックタイガー	ゆでる	25.0
				24.0	素干しさくらえび		24.0
56	塩蔵、生干し、乾物	15.80	237.0	120.0	しらす干し(ちりめん)		120.0
				117.0	まあじ(開き干し)	焼く	107.0
57	缶詰	3.10	46.5	22.5	からふとます水煮缶詰		22.5
				24.0	さんま蒲焼き缶詰		24.0
58	佃煮	0.20	3.0	3.0	あさり佃煮		3.0
59	練り製品	7.00	105.0	60.0	蒸しかまぼこ		60.0
				45.0	さつま揚げ		45.0
60	魚肉ハム、ソーセージ	0.62	9.3	9.3	魚肉ソーセージ		9.3
計		63.22	948.3	948.3			886.9

1 日摂取量:2017-2019 年国民健康・栄養調査 結果表(関東Ⅰ)による量(日常食の構成による)

調理後重量:調理により変化した後の重量

表 2-3 TD 試料 - 第 10 群(魚介類)試料 X-3

小分類		一日摂取量(g)	分別量(g)	各分別量(g)	X-3		
番号					食品名	調理	調理後重量(g)
48	あじ、いわし類	7.80	117.0	60.0	まあじ	焼く	54.2
				57.0	さば(しめさば)		57.0
49	さけ、ます	5.20	78.0	39.0	にじます(サーモントラウト)		39.0
				39.0	紅鮭	焼く	35.4
50	たい、かれい類	3.80	57.0	30.0	真鯛		30.0
				27.0	ぎんだら	焼く	21.7
51	まぐろ、かじき類	5.40	81.0	42.0	きはだまぐろ		42.0
				39.0	めかじき	焼く	33.3
52	その他の生魚	5.00	75.0	39.0	かんぱち	焼く	34.3
				36.0	ほっけ	焼く	30.9
53	貝類	3.20	48.0	24.0	ほっき貝(生食用)		24.0
				24.0	ほたて貝(生食用)		24.0
54	いか、たこ類	2.70	40.5	21.0	するめいか		21.0
				19.5	あかいか	焼く	17.8
55	えび、かに類	3.40	51.0	27.0	あまえび		27.0
				24.0	素干しさくらえび		24.0
56	塩蔵、生干し、乾物	15.80	237.0	120.0	まいわし(丸干し)	焼く	112.4
				117.0	しらす干し		117.0
57	缶詰	3.10	46.5	22.5	まぐろ水煮缶詰		22.5
				24.0	さばみそ煮缶詰		24.0
58	佃煮	0.20	3.0	3.0	わかさぎ(あめ煮)		3.0
59	練り製品	7.00	105.0	60.0	つみれ	焼く	60.0
				45.0	焼き竹輪		45.0
60	魚肉ハム、ソーセージ	0.62	9.3	9.3	魚肉ソーセージ		9.3
計		63.22	948.3	948.3			908.8

1 日摂取量:2017-2019 年国民健康・栄養調査 結果表(関東Ⅰ)による量(日常食の構成による)
調理後重量:調理により変化した後の重量

表 3-1 魚介類試料 添加回収試験

BT	ブリ		タイ		サーモン	
	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)
UV-PS	105.6	2.8	108.2	1.8	96.2	1.9
UV-9	93.4	3.4	104.9	3.0	92.1	4.2
UV-090	88.6	6.9	98.4	7.4	89.5	3.8
UV-234	109.9	3.3	81.4	3.7	119.4	6.5
UV-320	111.8	3.1	103	4.4	101.7	2.5
UV-327	104.3	6.0	103.3	8.5	109.6	6.6
UV-328	88.9	11.2	98.3	8.1	108.5	4.1
UV-350	110.3	8.6	105.6	3.0	102.8	3.4
UV-928	104.1	8.4	73.5	12.2	102.5	3.2

添加濃度:0.4 ng/g (n = 5)

表 3-2 魚介類試料 添加回収試験

BT	カキ		ホタテ		イカ		エビ	
	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)
UV-PS	83.2	1.6	96.2	2.6	99.9	1.6	102.3	1.4
UV-9	93.3	2.0	91.8	1.4	99.0	1.1	84.3	1.1
UV-090	78.9	1.5	79.3	0.7	78.8	0.7	74.4	1.1
UV-234	106.2	2.5	97.5	0.7	92.7	1.5	92.9	1.6
UV-320	103.1	1.5	94.8	1.2	101.0	2.2	104.9	0.8
UV-327	102.1	2.6	72.9	2.4	73.8	4.4	85.6	3.1
UV-328	107.4	8.2	105.4	2.1	112.0	10.7	95.5	1.8
UV-350	96.4	1.8	98.9	1.5	88.7	10.9	95.5	1.9
UV-928	107.7	2.1	91.7	0.5	95.3	2.2	89.0	0.7

添加濃度:0.4 ng/g (n = 5)

表 4-1 魚介類試料 添加回収試験(安定同位体標識化合物の回収率)

BT *d*	ブリ		タイ		サーモン	
	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)
UV-P d_3	91.9	8.5	79.2	4.0	83.3	2.3
UV-PS d_4	90.0	9.8	77.7	1.5	82.2	2.3
UV-234 d_4	71.7	6.8	82.8	9.0	60.7	3.4
UV-320 d_4	73.0	7.2	75.0	3.8	61.7	3.1
UV-327 d_3	74.1	6.7	71.4	2.2	54.8	10.6
UV-328 d_4	90.2	9.7	73.2	4.4	62.8	12.0
UV-350 d_4	93.2	9.1	79.9	11.2	69.4	6.1
UV-928 d_4	84.4	9.5	85.4	4.4	75.3	3.1

添加濃度:4 ng/g (n = 5)

表 4-2 魚介類試料 添加回収試験(安定同位体標識化合物の回収率)

BT *d*	カキ		ホタテ		イカ		エビ	
	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)
UV-P d_3	87.5	0.6	86.7	1.4	78.0	1.0	90.1	1.2
UV-PS d_4	92.9	1.2	86.4	2.0	75.7	1.1	86.7	1.6
UV-234 d_4	82.5	0.6	86.7	2.0	80.4	1.2	80.3	1.2
UV-320 d_4	89.4	1.9	92.4	1.8	76.7	2.0	79.6	1.5
UV-327 d_3	83.0	1.2	79.8	2.1	72.2	1.3	77.7	2.4
UV-328 d_4	73.9	1.1	76.3	0.9	73.5	3.1	75.9	1.7
UV-350 d_4	75.4	9.7	90.5	1.4	74.4	1.1	81.8	1.4
UV-928 d_4	86.2	0.6	84.3	2.1	76.4	0.8	79.6	1.9

添加濃度:4 ng/g (n = 5)

表 5 TD 試料 - 第 10 群試料 添加回収試験

BT	真度(%)		
	X-1	X-2	X-3
UV-9	83.3	91.1	91.4
UV-090	81.9	78.9	77.7
UV-234	108.0	107.5	107.4
UV-320	99.9	100.4	92.8
UV-327	101.0	99.1	100.9
UV-328	117.1	115.9	102.5
UV-350	104.4	103.6	96.3
UV-928	98.0	102.3	96.6

添加濃度:0.4 ng/g (n = 1)

表 6 TD 試料 - 第 10 群試料 添加回収試験
(安定同位体標識化合物の回収率)

BT d	真度(%)		
	X-1	X-2	X-3
UV-P d_3	83.4	80.1	79.4
UV-PS d_4	83.8	79.0	76.7
UV-234 d_4	72.9	67.9	68.1
UV-320 d_4	74.4	72.0	71.8
UV-327 d_3	61.3	58.8	61.3
UV-328 d_4	76.3	67.9	57.6
UV-350 d_4	74.3	71.1	70.9
UV-928 d_4	88.0	71.0	77.2

添加濃度:4 ng/g (n = 1)

表 7 試料分析結果

(ng/g)

試料	UV-PS	UV-9	UV-090	UV-234	UV-320	UV-327	UV-328	UV-350	UV-928
アジ A	ND	ND	ND	(Tr)	Tr	Tr	Tr	Tr	ND*
アジ B	ND	ND	ND	(Tr)	Tr	Tr	Tr	Tr	ND*
サバ A	ND	ND	ND	ND*	(Tr)	ND	ND*	ND*	ND*
サバ B	ND	ND	ND	ND*	ND*	ND	ND*	ND*	ND*
サーモン A	ND	ND	ND	(Tr)	(Tr)	Tr	(Tr)	ND	ND*
サーモン B	ND	ND	ND	(Tr)	ND*	Tr	(Tr)	ND	(Tr)
タイ A	ND	ND	ND	Tr	ND	ND*	ND*	ND	Tr
タイ B	ND	ND	ND	(Tr)	Tr	(Tr)	(Tr)	Tr	ND*
タイ C	ND	ND	ND	(Tr)	ND	Tr	(Tr)	ND	(Tr)
タラ A	ND	ND	ND	(Tr)	ND	(Tr)	(Tr)	ND	(Tr)
タラ B	ND	ND	ND	(Tr)	ND	ND*	(Tr)	ND	ND*
マグロ A	ND	ND	ND*	(Tr)	ND	ND	ND*	ND	ND*
マグロ B	ND	ND	ND*	(Tr)	ND*	ND	ND*	ND*	(Tr)
マグロ C	ND	ND	ND*	(Tr)	Tr	ND*	ND*	Tr	ND*
マグロ D	ND	ND	ND*	(Tr)	ND*	ND	ND*	ND*	ND*
マグロ E	ND	ND	ND*	Tr	ND*	ND	ND*	ND*	ND*
マグロ F	ND	ND	ND*	Tr	ND	ND	ND*	ND	ND*
マグロ G	ND	ND	ND*	(Tr)	ND	ND	ND*	ND	ND*
ブリ A	ND	ND	ND	(Tr)	(Tr)	Tr	Tr	ND	(Tr)
ブリ B	ND	ND	ND	Tr	ND	ND	(Tr)	ND	ND*
ブリ C	ND	ND	ND	(Tr)	ND	ND*	ND*	ND	ND*
ブリ D	ND	ND	ND	(Tr)	ND	ND	ND*	ND	ND*
ブリ E	ND	ND	ND	(Tr)	ND*	(Tr)	(Tr)	(Tr)	ND*
ブリ F	ND	ND	ND*	(Tr)	ND	ND*	ND*	ND	ND*
カキ	ND	ND	ND	Tr	Tr	Tr	0.6	Tr	Tr
ホタテ	ND	ND	ND	(Tr)	Tr	(Tr)	Tr	Tr	(Tr)
イカ	ND	ND	ND	Tr	ND	ND	ND*	ND	ND
エビ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND*	ND	ND

ND:ピーク検出なし
ND*:操作ブランクと同等またはそれ以下のピーク検出
(Tr):操作ブランク以上のピーク検出
(Tr):操作ブランクの 2 倍以上かつ *S/N* 3 以上のピーク検出

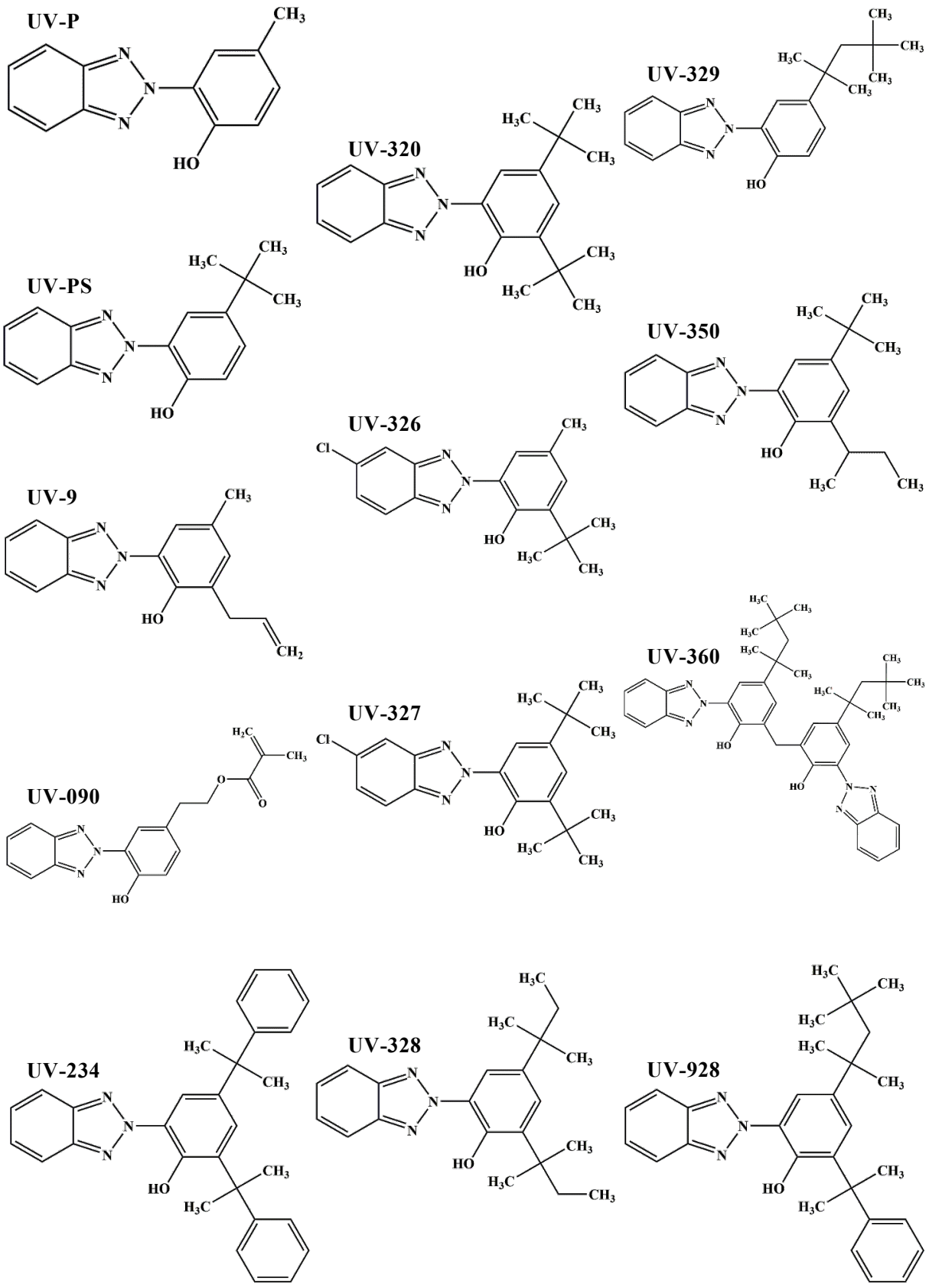


図 1　分析対象とした BT の構造式

秤　取

↓ 魚介類試料:5.0 g

↓ 内標準物質添加

メタノール抽出

↓ メタノール 30 mL を加えてホモジナイズ

↓ 毎分 3,500 回転、5 分間遠心分離

↓ 上清を採取

↓ 残留物にメタノール 30 mL を加えてホモジナイズ

↓ 毎分 3,500 回転、5 分間遠心分離

↓ 上清を合わせてメタノールで 100 mL に定容

↓ 抽出液 20 mL(試料 1.0 g 相当)を採り、減圧濃縮して溶媒除去

n-ヘキサン転溶

↓ 2 w/v%塩化ナトリウム溶液 100 mL 及び *n*-ヘキサン 30 mL を添加

↓ 振とう 5 分間

↓ *n*-ヘキサン層を採取

↓ 水層に *n*-ヘキサン 30 mL を加えて、同様に操作

↓ *n*-ヘキサン層を合わせて無水硫酸ナトリウム 2 g で脱水・ろ過

↓ 減圧濃縮(約 1 mL)し、*n*-ヘキサン 1 mL を加えて溶解・・・①

シリカゲル精製

↓ 5%含水シリカゲル 5 g に無水硫酸ナトリウム 1 g を積層

↓ *n*-ヘキサン 40 mL でコンディショニング

↓ ①を注入(負荷液を採取)

↓ 10 vol%酢酸エチル含有 *n*-ヘキサン 100 mL で溶出

↓ 負荷液及び溶出液を採取

↓ 減圧濃縮(約 1 mL)し、*n*-ヘキサン 1 mL を加えて溶解・・・②

InertSep FL-PR(2 g/12 mL)

↓ *n*-ヘキサン 10 mL でコンディショニング

↓ ②を注入(負荷液は捨てる)

↓ 5 vol%酢酸エチル含有 *n*-ヘキサン 25 mL で溶出

↓ 溶出液を減圧濃縮し、溶媒除去

↓ メタノールを加えて正確に 10 mL とする

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 2　試験溶液の調製方法(分析法フローチャート)

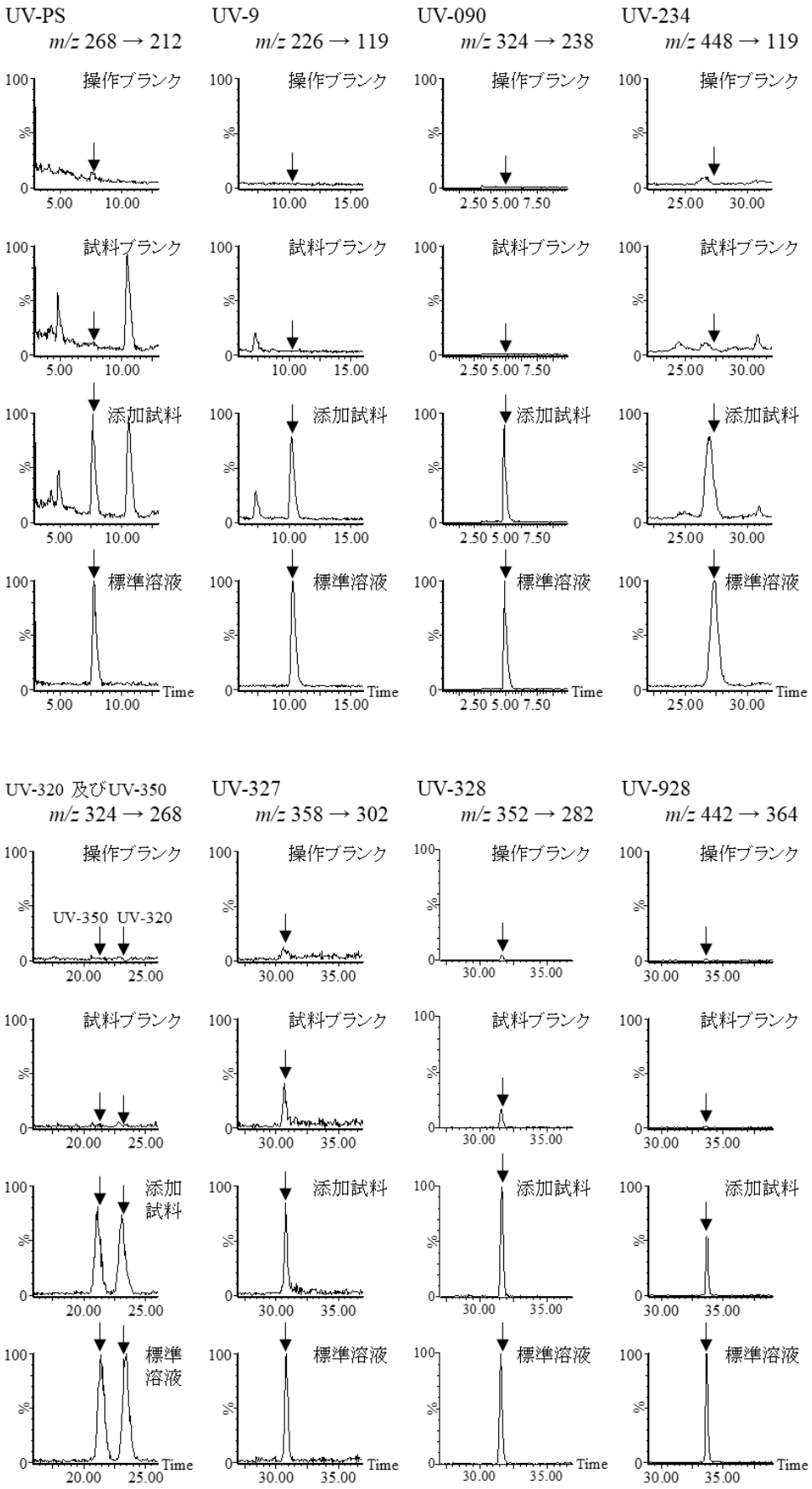


図 3　ブリ試料　添加回収試験時に得られた SRM クロマトグラム

添加濃度：0.4 ng/g（試験溶液中濃度 0.04 µg/L）　　標準溶液：0.04 µg/L

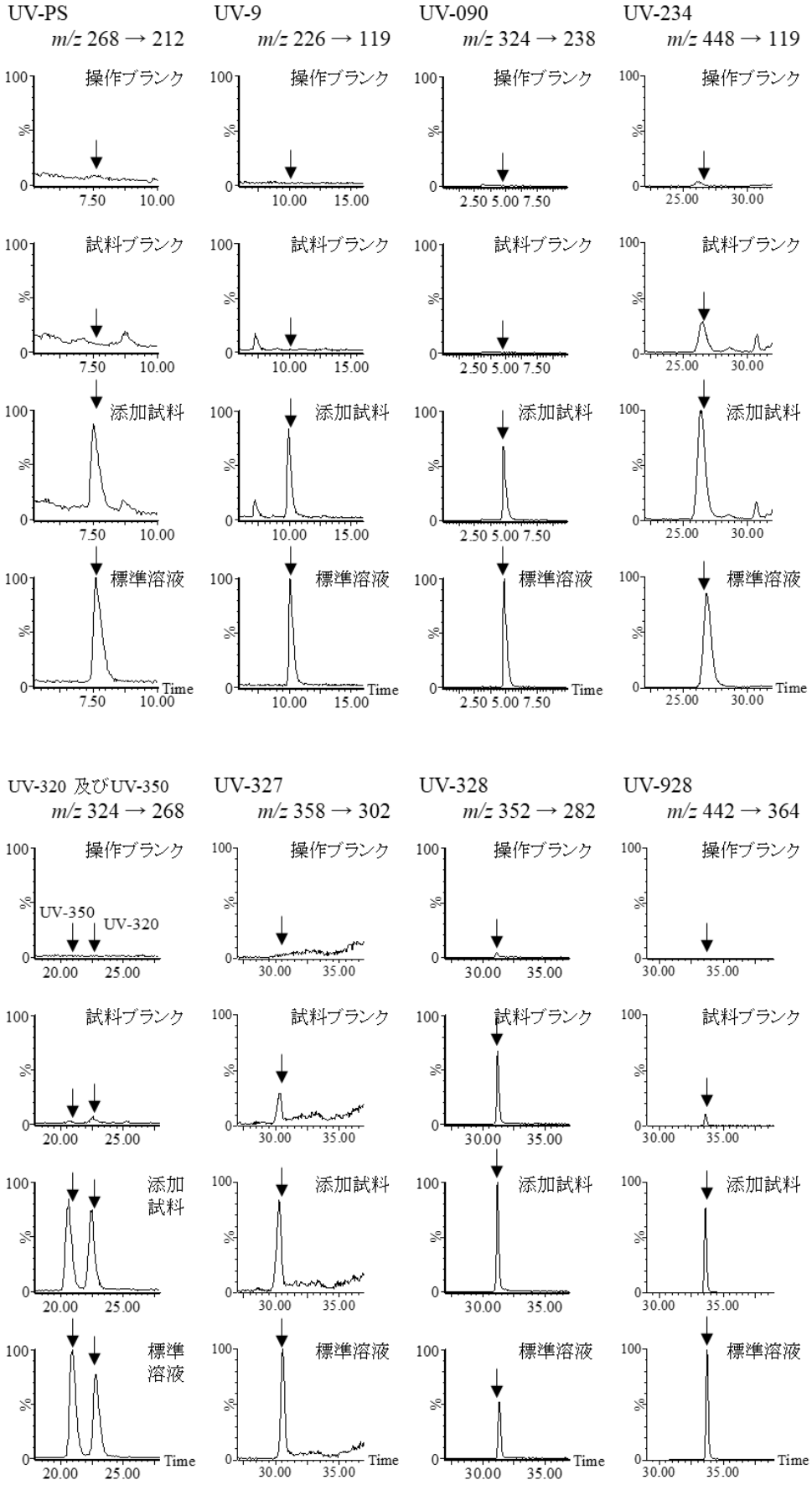


図 4　カキ試料の添加回収試験時に得られた SRM クロマトグラム

添加濃度：0.4 ng/g（試験溶液中濃度 0.04 μg/L）　　標準溶液：0.04 μg/L

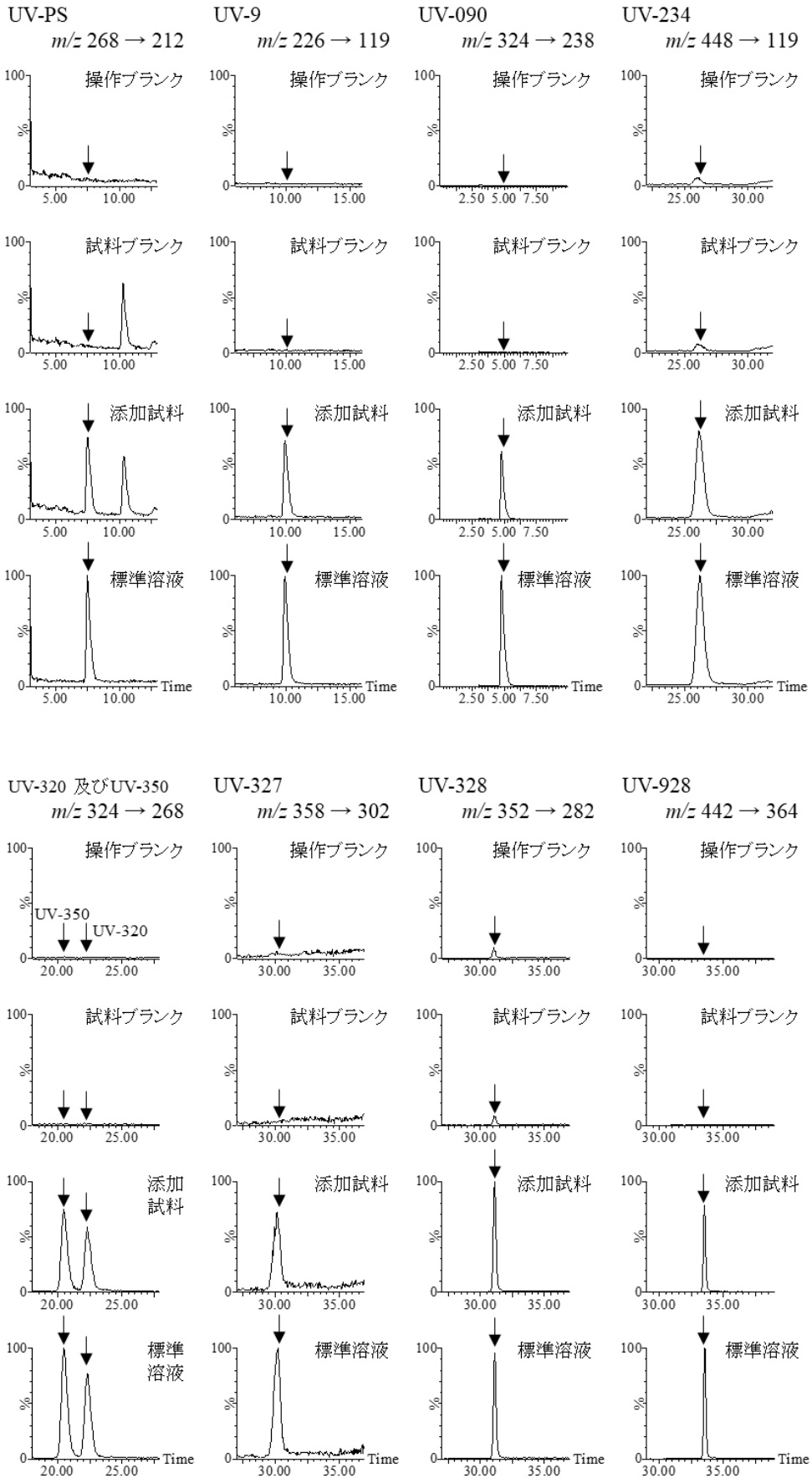


図 5　イカ試料の添加回収試験時に得られた SRM クロマトグラム

添加濃度：0.4 ng/g（試験溶液中濃度 0.04 μg/L）　　標準溶液：0.04 μg/L

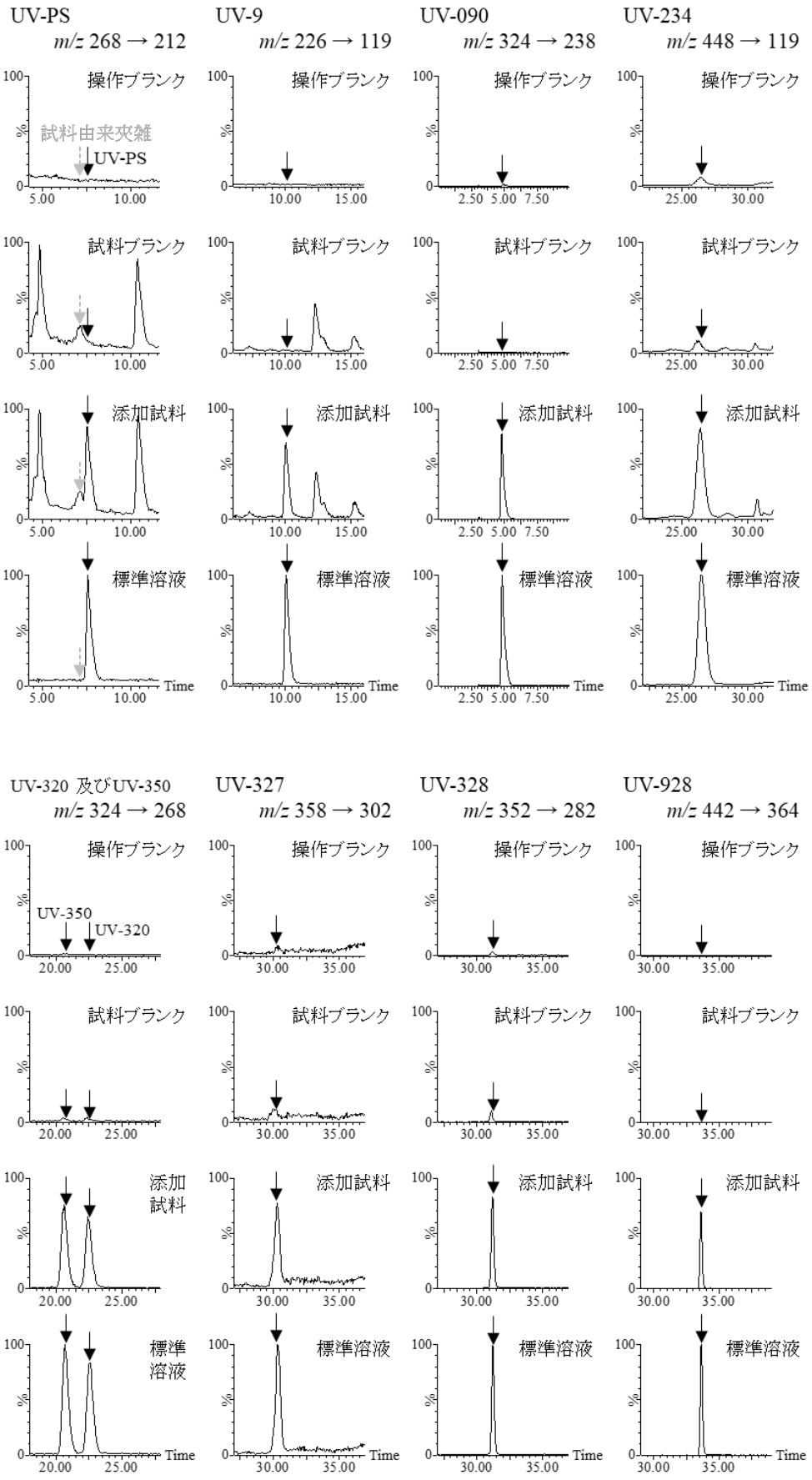


図 6　TD 試料の添加回収試験時に得られた SRM クロマトグラム

添加濃度：0.4 ng/g（試験溶液中濃度 0.04 μg/L）　　標準溶液：0.04 μg/L

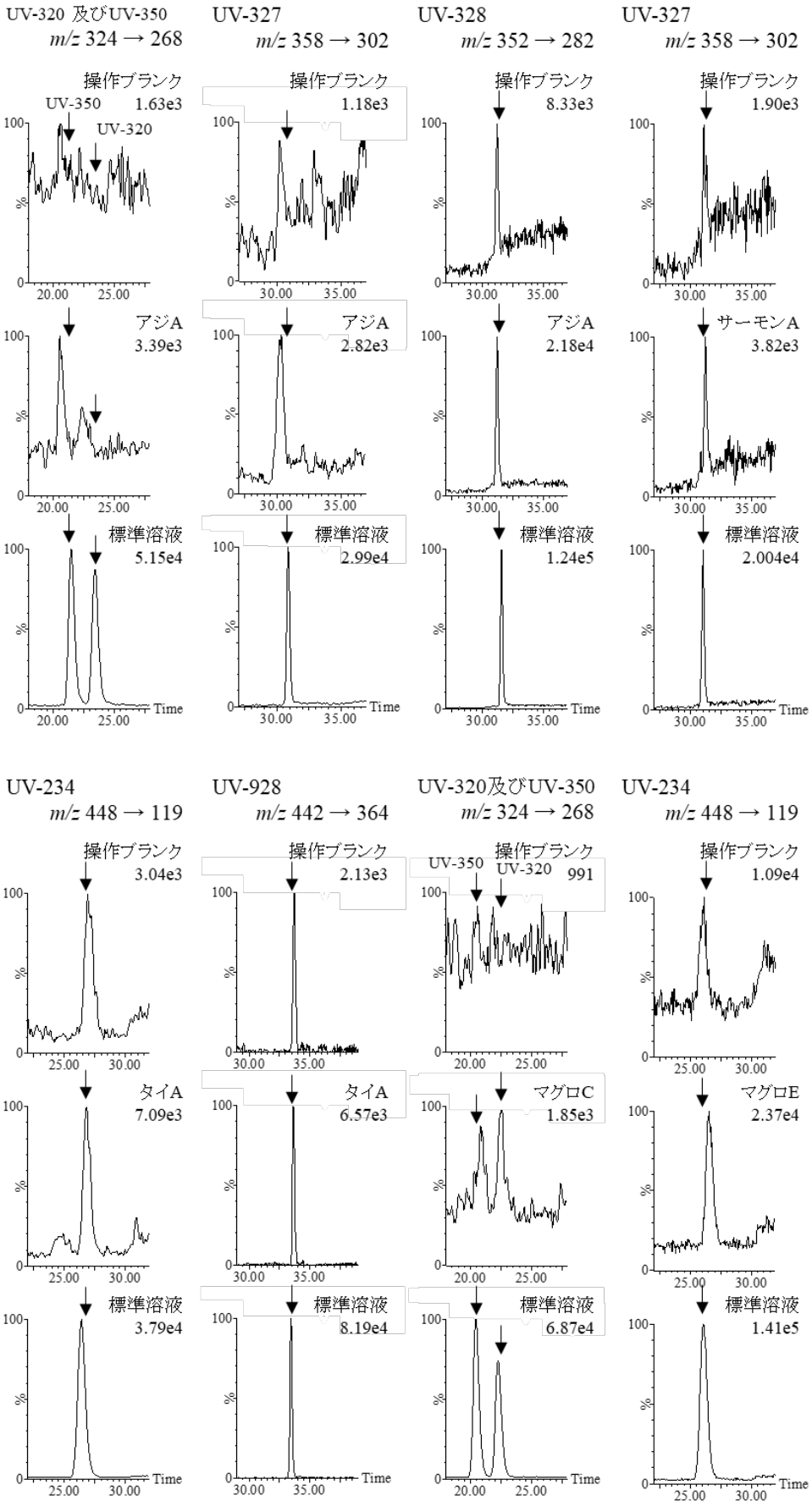


図 7　試料分析時に得られた代表的な SRM クロマトグラム

Ⅱ．分担研究報告書

(3)有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-3)食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

研究分担者　堤　智昭

令和6年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

(3)有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究
(3-3)食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

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

本研究では食品中のリン酸エステル系難燃剤（OPFRs）の摂取量推定に必要な分析法の開発を目的とした。令和5年度に食品中のOPFRsの一斉分析が可能な前処理方法として、アセトニトリル抽出・塩析法およびゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）精製法について検討を行ったところ、食品によっては更なる精製を考慮する必要があった。そこで、本年度はPSA固相ミニカラムによる精製の追加検討を行った上で、OPFRs一斉分析法の検出下限値の推定、添加回収試験を実施した。

PSA固相ミニカラムによる精製について検討した結果、PSA固相カラムは、OPFRsを損失することなく精製が可能であり、OPFRsの一斉分析法に適用可能であった。

次に、OPFRs一斉分析法の検出下限値の推定を行った。耐容一日摂取量（TDI）が示されているOPFRsについて、推定した検出下限値で当該物質が含まれると仮定して摂取量を試算した結果、いずれもTDIと比較して十分に低い値であった。

サーモン、玄米、牛乳を用いて添加回収試験を行った結果、玄米におけるトリス(3,5-ジメチルフェニル)ホスフェート（T35DMPPhP）、牛乳におけるT35DMPPhP、トリス(2-エチルヘキシル)ホスフェート（TEHP）を除いて72～120%の回収率が得られ概ね良好な結果であった。

サーモン、玄米、牛乳、トータルダイエット試料の1群（米・米加工品）および12群（乳・乳製品）を分析した結果、リン酸トリス(2-クロロエチル)（TCEP）、リン酸トリブチル（TBP）およびリン酸2-エチルヘキシルジフェニル（EHDPhP）が検出下限を超えて検出され、OPFRsは環境中から食品へと移行している可能性が示唆された。

今後、摂取量推定のための分析を実施する際には、多様な食品に対応する必要がある。特に油脂を多く含む食品については、抽出溶媒によってはOPFRsの抽出効率が大きく変わることも懸念されるため、分析法の適用性を検証する際には注意が必要である。

研究協力者

福岡県保健環境研究所

佐藤 環、飛石和大、堀 就英

A. 研究目的

難燃剤は、製品を燃えにくくするために添加される化学物質であり、プラスチック、ゴム、繊維など幅広く使用されている。難燃剤には、有機系と無機系の 2 種類があり、有機系にはハロゲン系やリン系、無機系には金属水酸化物やアンチモン系がある。その中でも、ハロゲン系難燃剤は低

コストで効果的なため、様々な製品に使用されてきた。しかし、ハロゲン系難燃剤の一部には、環境中での残留性、生物濃縮性、ヒトを含む生物への毒性、長距離移動性が問題視され、日本では「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）」、国際的には「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約（POPs 条約）」によって規制された。そのため、様々な難燃剤が代替利用されるようになった。中でも、塩素や臭素を含有しない分子構造を持ち、焼却処分における有害なダイオキシン類の発生リスクを低減した難燃剤が選定されるようになっており、その選択肢としてリン酸エステル系難燃剤（Organo Phosphate Flame Retardants; OPFRs）が挙げられる[1]。

OPFRs は、空気[2]、ハウスダスト[3]、河川水[4,5]、海水[6,7]、土壌[8]、堆積物[2]など、様々な環境から検出されている。また、OPFRs は室内環境から精白米への吸着[9]や母乳からの検出[10]が確認されており、環境から食品への OPFRs の移行が懸念される。一部の OPFRs は神経毒性や発がん性、遺伝毒性が疑われており[11,12]、食事を通じた健康への影響を評価することは極めて重要である。このような現況を踏まえ、本研究では、食品中の OPFRs の摂取量を推定するための分析法の開発を目的とした。令和 4 年度は、ガスクロマトグラフ・タンデム四重極型質量分析計（GC-MS/MS）および液体クロマトグラフ・タンデム四重極型質量分析計（LC-MS/MS）を用いて、OPFRs を一斉に定量可能な測定方法を検討した。その結果、検討した機器における測定感度は LC-MS/MS 法が勝るが、ピーク分離に関しては GC-MS/MS 法が優れていた。OPFRs の測定方法としては、LC-MS/MS 法により定量を行うことを基本とし、高濃度で検出された場合に異性体分離に関して疑義が生じた際には GC-MS/MS 法を併用して確認する必要があると考えられた。また、将来的には、GC-MS/MS 法の高分離能と大気圧イオン化法の高感度を特徴に併せ持つ大気圧ガスクロマトグラフ・タンデム四重極型質量分析計（APGC-MS/MS）を用いた測定法の適用も考慮する必要があると結論付けた[13]。令和 5 年度は、まず、APGC-MS/MS を用いて OPFRs を一斉に分析可能な方法を検討した。殆どの物質で検量線の直線性が確認できたが、現状では、LC-MS/MS 法が測定感度に優れており、微量分析に適していると考えられた。また、食品中において OPFRs を一斉に分析可能な前処理方法として、アセトニトリル抽出・塩析法およびゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）精製法について検討を行った。一部の OPFRs は、測定時の試料マトリックスの影響を受けていると考えられ、食品によっては更なる精製を考慮する必要があった。引き続き精製方法を検討した上で、OPFRs 一斉分析法の構築を目指すこととした[14]。そこで、本年度の研究では、精製方法の追加検討を行った上で、OPFRs 一斉分析法における検出下限値の推定、添加回収試験を実施した。

B. 研究方法

1. 試薬及び器具

1-1. 標準物質

分析対象とした OPFRs の標準溶液は、リン酸トリエチル(TEP)、リン酸トリブチル(TBP)、リン酸トリス(2-クロロエチル) (TCEP)、リン酸トリス(1-クロロ-2-プロパニル) (TCPP)、リン酸トリフェニル(TPhP)、リン酸トリプロピル(TPrP)、リン酸 2-エチルヘキシルジフェニル(EHDPhP)、リン酸トリス(2-メチルフェニル) (ToTP)、リン酸トリス(3-メチルフェニル) (TmTP)、リン酸トリス(4-メチルフェニル) (TpTP)、リン酸トリス(2-ブトキシエチル) (TBEP)、リン酸トリス(3,5-ジメチルフェニル) (T35DMPhP)、リン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル) (TDCPP)、リン酸トリス(2-エチルヘキシル) (TEHP)、リン酸トリス(2-イソプロピルフェニル) (T2iPPhP)、リン酸トリス(3-イソプロピルフェニル) (T3iPPhP)、リン酸トリス(4-イソプロピルフェニル) (T4iPPhP)、リン酸トリス(2,3-ジブロモプロピル) (TDBPP)の非標識（ネイティブ体）18 種類を（株）ウェリントンラボラトリージャパンより購入した。以

上の物質について化学式や物性等の情報を表1にまとめた。

クリーンアップスパイク標準溶液は、リン酸トリエチル-d_{15} (TEP-d_{15})、リン酸トリブチル-d_{27} (TBP-d_{27})、リン酸トリス(2-クロロエチル)-d_{12} (TCEP-d_{12})、リン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル)-d_{15} (TDCPP-d_{15})、リン酸トリス(2-ブトキシエチル)-$^{13}C_2$ (TBEP-$^{13}C_2$)、リン酸トリフェニル-$^{13}C_{18}$ (TPhP-$^{13}C_{18}$)、リン酸トリプロピル-d_{21} (TPrP-d_{21})を(株)ウェリントンラボラトリージャパンより、リン酸トリス(4-イソプロピルフェニル) -$^{13}C_{18}$ (T4iPPhP-$^{13}C_{18}$)の安定同位体ラベル化体 8 種類をCambridge Isotope Laboratories, Inc.より購入した。

シリンジスパイク標準溶液は、安定同位体ラベル化体であるリン酸トリフェニル-d_{15} (TPhP-d_{15})を(株)ウェリントンラボラトリージャパンより購入した。

1-2. 試薬及び器具

アセトニトリル(残留農薬・PCB 試験用)、アセトニトリル(LC/MS 分析用)、アセトン(ダイオキシン類分析用)、塩化ナトリウム(残留農薬・PCB 試験用)、シクロヘキサン(残留農薬・PCB 試験用)、蒸留水(LC/MS 分析用)、蒸留水(ヘキサン洗浄品、残留農薬・PCB 試験用)、*n*-ヘキサン(ダイオキシン類分析用)、メタノール(LC/MS 分析用)は関東化学(株)より購入した。硫酸マグネシウム(無水)(特級)は富士フイルム和光純薬(株)より購入した。エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムは InertSep PSA(500 mg/6 mL) をジーエルサイエンス(株)より購入した。

GPC 精製用の LC カラムは CLNpak EV-2000 AC、ガードカラムは CLNpak EV-G AC を昭和電工(株)より購入した。

分析用の LC カラムは、Acquity BEH C18(内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 1.7 μm)を日本ウォーターズ(株)より購入した。

1-3. 試料

サーモン、玄米および牛乳は福岡県内の小売店またはインターネットで購入した。サーモンはハンドブレンダーを、玄米はナイフミルを用いて細切均一化した。試料は-20℃の冷凍庫で保管し、分析時に解凍して使用した。

2. 機器

液体クロマトグラフ・タンデム四重極型質量分析計(LC-MS/MS)は、日本ウォーターズ(株)社製の Acquity UPLC H-Class Plus Binary/Xevo TQ-XS を使用した。

ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)は、島津製作所製の LC-20AD/SPD-20A を使用し、カラムオーブンはジーエルサイエンス社製の CO 903 を使用した。

3. 試験溶液の調製

3-1. PSA 固相ミニカラムの検討

アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液でネイティブ体の OPFRs 混合標準溶液(5 ng/mL)を調製し、その 2 mL を予めアセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 10 mL でコンディショニングした PSA 固相ミニカラムに負荷し、アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 5 mL で溶出した(画分 1)。さらに、アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 5 mL で溶出した(画分 2)。各画分を窒素気流下乾固後、メタノールに溶解してクリーンアップスパイクを添加し 1 mL にしたものを LC-MS/MS 測定し、各画分の PSA 固相ミニカラムからの OPFRs の回収率を求めた。

サーモン試料を用いて PSA 固相ミニカラム精製における OPFRs の回収率を評価した。試料約 10 g をガラス製の遠沈管に量り採り、アセトニトリル 20 mL を加えてホモジナイズ(10,000 rpm, 2 分間)した。1 g の塩化ナトリウムおよび 4 g の硫酸ナトリウム(無水)を加えて塩析、脱水を行った後、遠心分離した(4,000 rpm, 10min)。上澄み液を回収し、約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物をアセトン:シクロヘキサン(2:8)混液 10 mL に溶解し、遠心分離(4,000 rpm,10 分間)して得られた上澄み液を GPC に供

した。GPC 条件は表 2 に示した。注入後 9～21 分の画分を約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去し、アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液で調製したネイティブ体の OPFRs 混合標準溶液(50 ng/mL) 2 mL に溶解し、予めアセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 10 mL でコンディショニングした PSA 固相ミニカラムに負荷した。アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 1 mL で 2 回洗い込みを行った後、アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 5 mL で溶出した。回収した負荷液および溶出液を窒素気流下乾固後、メタノールで溶解してクリーンアップスパイク用の標準物質を各 100 ng 添加後 10 mL にしたものを LC-MS/MS 測定溶液とした。

3-2. 試験溶液の調製

試料は、サーモン、玄米、牛乳、令和 5 年度に福岡県で調製したトータルダイエット(TD)試料の 1 群(米・米加工品)、12 群(乳・乳製品)とした。試料約 10 g をガラス製の遠沈管に量り採り、クリーンアップスパイクを各 50 ng 添加した後、アセトニトリル 20 mL(玄米試料は蒸留水 10 mL を加えて静置した後、アセトニトリル 20 mL)を加えてホモジナイズ(10,000 rpm, 2 分間)した。1 g の塩化ナトリウムおよび 4 g の硫酸ナトリウム(無水)を加えて塩析、脱水を行った後、遠心分離した(4,000 rpm, 10min)。上澄み液を回収し、約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物をアセトン:シクロヘキサン(2:8)混液 10 mL に溶解し、遠心分離(4,000 rpm,10 分間)して得られた上澄み液を GPC に供した。注入後 9～21 分の画分を約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去した。玄米および牛乳試料は、残留物をメタノールに溶解して、シリンジスパイクを各 10 ng 添加後 10 mL にしたものを LC-MS/MS 測定溶液とした。サーモン試料は、残留物をアセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 2 mL に溶解し、予めアセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 10 mL でコンディショニングした PSA 固相ミニカラムに負荷した。アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 1 mL で 2 回洗い込みを行った後アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 5 mL で溶出した。回収した負荷液および溶出液を窒素気流下乾固後、メタノールで溶解して、シリンジスパイクを各 10 ng 添加した後、10 mL にしたものを LC-MS/MS 測定溶液とした。

3-3. ブランク試験

試料を用いずに、3-2 に従って試験溶液を調製した。

3-4. 添加回収試験

試料は、サーモン、玄米および牛乳とした。試料約 10 g をガラス製の遠沈管に量り採り、ネイティブ体の OPFRs 標準物質を各 200 ng を添加した後、3-2 に従って試験溶液を調製した。

3-5. OPFRs の測定条件

OPFRs の LC-MS/MS 測定条件は表 3-1 に、SRM 条件は表 3-2 に示した。

3-6. OPFRs の測定

18 種の OPFRs ネイティブ体および 9 種の OPFRs 安定同位体ラベル化体について、それぞれ混合標準溶液(アセトニトリル溶液)を調製した。ネイティブ体とラベル化体の混合標準液を用いメタノールにて順次希釈して 0.05～10 ng/mL の範囲で 8 点の検量線用混合標準液を調製し LC-MS/MS にて測定を行った。なお、ラベル化体は、1 ng/mL となるように検量線用混合標準溶液に加えた。定量は内部標準法により行った。

3-7. 検出下限値

ブランクが認められた OPFRs については、ブランク(*n*=5)の標準偏差の 3 倍に相当する量を検出下限値として求めた。ブランクを認めない物質は近傍のノイズの(最大値－最小値)×(2/5)をノイズ幅(N)として、シグナル(S)を N で除した S/N が 3 以上となる量を求めた。

C. 研究結果及び考察

1. PSA 固相ミニカラムの検討

OPFRs の PSA 固相ミニカラムからの溶出状況を表 4 に示した。画分 1 における OPFRs の回収率は 75.5～106.3%、画分 2 における OPFRs の回収率は 0.01～1.9%となった。以上のことから溶出量 5 mL で OPFRs の殆どが溶出されていると考えられた。

サーモン試料を用いて、PSA ミニ固相カラムからの回収率を評価した結果を表 5 に示した。回収率（内部標準法）は、83.1～105.6%となり、良好な結果が得られた。以上のことから、OPFRs の一斉分析において、PSA 固相カラムによる精製が可能であることが確認された。

2. 検出下限値

OPFRs の標準溶液の定量イオンの SRM クロマトグラムを図 1～18 の a)に、ブランク試験溶液における定量イオンの SRM クロマトグラムを図 1～18 の b)に示した。ブランク試験溶液から TEP、TCEP、TCPP、TDCPP、TBP、TBEP、T4iPPhP および TEHP を検出した。

推定した OPFRs の検出下限値を表 6 に示した。また、耐容一日摂取量（TDI）が示されている OPFRs については、TD 調査において当該物質が検出下限値で含まれていると仮定し、摂取量を試算した（表 7）。試算された摂取量は TDI と比較して十分に低い値であったことから、少なくともこれらの OPFRs については、TD 調査において TDI との比較を行う上で、概ね適切な検出下限値であると考えられた。

3. 添加回収試験

添加回収試験における各 OPFRs の定量イオンの SRM クロマトグラムを図 1～18 の c)～e)に示した。妨害ピークはなく良好なクロマトグラムが得られた。

OPFRs の添加回収試験の結果を表 8 に示した。回収率は内部標準法により算出した。定量に用いた検量線の決定係数は 0.994～1.000 の範囲であり、良好な直線性が得られた。OPFRs の回収率はサーモン（GPC+PSA 精製）: 75～120%、サーモン（GPC のみ）: 72～109%、玄米: 59～112%、牛乳 : 56～134%であった。玄米の T35DMPPhP、牛乳の T35DMPPhP、TEHP を除いて 70～120%の回収率が得られ、概ね良好な結果となった。サーモンの添加回収試験の併行精度は、GPC+PSA 精製: 0.4～6.5%、GPC のみ: 0.5～18%であった。PSA 固相カラム精製を追加することによって、一部の OPFRs（TDBPP、EHDPhP および TEHP）について精度の向上が見られた。

また、クリーンアップスパイクの回収率は、サーモン（GPC+PSA 精製）: 52～96%、サーモン（GPC のみ）: 47～114%、玄米: 69～96%、牛乳: 61～90%であった。食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン」[15]に記載されている目標値（40～120%）を満足した。

4. 食品試料の分析

サーモン、玄米、牛乳、TD-1 群および 12 群を分析した定量結果を表 9 に示した。TCEP が玄米、牛乳、1 群および 12 群（図 2 f)～i)）から、TBP が玄米および 1 群（図 8 f)、g)）から、EHDPhP が 12 群（図 13 f)）から検出下限を超えて検出された。TCEP は環境中からの検出事例が報告されている [16]。TBP は室内環境から精白米へ移行した事例 [9]もあることから、OPFRs は環境中から食品へと移行している可能性が示唆された。

D. 結論

本年度は PSA 固相ミニカラムによる精製の追加検討を行った上で、OPFRs 一斉分析法の検出下限値の推定、添加回収試験を実施した。

PSA 固相ミニカラムによる精製について検討した。その結果、PSA 固相カラムは、OPFRs を損失することなく精製が可能であり、OPFRs の一斉分析法に適用可能であった。また、推定した OPFRs の検出下限値については、TD 調査において TDI との比較を行う上で概ね適切であると考えられた。

サーモン、玄米、牛乳を用いて添加回収試験を行った結果、玄米の T35DMPPhP、牛乳の T35DMPPhP、TEHP を除いて 72～120％の回収率が得られ、概ね良好な結果となった。

サーモン、玄米、牛乳、TD-1 群（米・米加工品）および 12 群（乳・乳製品）を分析した結果、TCEP、TBP および EHDPhP が検出下限を超えて検出され、OPFRs は環境中から食品へと移行している可能性が示唆された。

今後、摂取量推定のため TD 試料の分析を実施する際には、多様な食品に対応する必要がある。特に油脂を多く含む食品については、抽出溶媒によっては OPFRs の抽出効率が大きく変わることも懸念されるため、分析法の適用性を検証する際には注意が必要である。

E. 参考文献

1) 松神秀徳、戸舘侑孝、Sicco H. BRANDSMA、Pim E.G. LEONARDS、滝上英孝、リン酸エステル系難燃剤の定量分析法の開発と国際相互検定研究による検証．環境化学 (2014)24(2),41-49.

2) van der Veen I., de Boer J. Phosphorus flame retardants: Properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis. Chemosphere (2012) 88, 1119-1153.

3) He C., Zheng J., Qiao L., Chen S., Yang J., Yuan J., Yang Z., Mai B., Occurrence of organophosphorus flame retardants in indoor dust in multiple microenvironments of southern China and implications for human exposure. Chemosphere (2015) 133, 47-52.

4) 山崎隆博、吉川昌範. 福井県内の河川におけるリン酸エステル系難燃剤の実態について. 福井県衛生環境研究センター年報 (2017) 16, 57-59.

5) 宮尻久美、坂 雅宏. リン酸エステル系難燃剤分析法の精度と京都府南部河川水を試料とした本法の適用結果について. 京都府保環研年報 (2019) 64, 24-29.

6) Chen, M.Q., Gan, Z.W., Qu, B., Chen, S.B., Dai, Y.Y., Bao, X.M., Temporal and seasonal variation and ecological risk evaluation of flame retardants in seawater and sediments from Bohai Bay near Tianjin, China during 2014 to 2017. Mar. Pollut. Bull. (2019) 146, 874-883.

7) Zheng, H.Y., Cai, M.H., Yang, C., Gao, Y., Chen, Z.Y., Liu, Y.G., Terrigenous export and ocean currents' diffusion of organophosphorus flame retardants along China's adjacent seas. Environ. Pollut. (2022) 299, 118873.

8) Wang, Y., Sun, H.W., Zhu, H.K., Yao, Y.M., Chen, H., Ren, C., Wu, F.C., Kannan, K., Occurrence and distribution of organophosphate flame retardants (OPFRs) in soil and outdoor settled dust from a multi-waste recycling area in China. Sci. Total Environ. (2018) 625, 1056-1064.

9)渡邊美咲、野口実華子、橋本多美子、吉田精作. 室内における有機リン系難燃剤の精白米への吸着. 食品衛生学雑誌 (2019) 60, 159-167.

10) Kim J.-W., Isobe T., Muto M., Tue N.M., Katsura K., Malarvannan G., Sudaryanto A., Chang K.-H., Prudente M., Viet P.H., Takahashi S., Tanabe S., Organophosphorus flame retardants (PFRs) in human breast milk from several Asian countries. Chemophere(2014) 116, 91-97.

11) Maddela N.R., Venkateswarlu K., Megharaj M., Tris (2-chloroethyl) phosphate, a pervasive flame retardant: critical perspective on its emissions into the environment and human toxicity. Environ Sci Process Impacts (2020) 22(9), 1809-1827.

12) Wang C., Chen H., Li H., Yu J., Wang X., Liu Y., Review of emerging contaminant tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate: Environmental occurrence, exposure, and risks to organisms and human health.

Environment International (2020) 143, 105946.
13) 令和 4 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金　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のための研究」分担研究報告書(有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究)
14) 令和 5 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金　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のための研究」分担研究報告書(有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究)
15) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知“食品中のダイオキシン類測定方法暫定ガイドライン”平成 20 年 2 月 28 日, 食安監発第 0228003 号.
16) 加藤みか、西野貴裕、宮沢佳隆、飯田有香、東條俊樹、浅川大地、市原真紀子、大方正倫、松村千里、羽賀雄紀、吉識亮介、栫拓也、長谷川瞳、宮脇　崇、高橋浩司、片宗千春、高澤嘉一. リン酸エステル系難燃剤による国内水環境汚染の実態. 地球環境 (2022) 27(3), 243-252.

F.研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) Tamaki Sato, Kazuhiro Tobiishi, Tsuguhide Hori, Tomoaki Tsutsumi. Simultaneous Measurement Method for Organophosphate Flame Retardants: Comparison of LC-MS/MS and GC-MS/MS, 44th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (2024.9)

2) 佐藤 環、飛石和大、堀　就英、堤 智昭:食品中のリン酸エステル系難燃剤の一斉分析法の検討(2). 第 120 回日本食品衛生学会学術講演会 (2024.11)

表 1　分析対象とした OPFRs

Compound name	Abbreviation	CAS RN	Formula	Log Pow	Monoisotopic mass
Triethyl phosphate	TEP	78-40-0	$C_6H_{15}O_4P$	0.80	182.0708
Tripropyl phosphate	TPrP	513-08-6	$C_9H_{21}O_4P$	1.87	224.1178
Tributyl phosphate	TBP	126-73-8	$C_{12}H_{27}O_4P$	4.00	266.1647
Tris(2-chloroethyl) phosphate	TCEP	115-96-8	$C_6H_{12}Cl_3O_4P$	1.44	283.9539
Tris(1-chloro-2-propanyl) phosphate	TCPP	13674-84-5	$C_9H_{18}Cl_3O_4P$	2.59	326.0008
Triphenyl phosphate	TPhP	115-86-6	$C_{18}H_{15}O_4P$	4.59	326.0708
2-ethylhexyl diphenyl phosphate	EHDPhP	1241-94-7	$C_{20}H_{27}O_4P$	5.73	362.1647
Tris(2-methylphenyl) phosphate	ToTP	78-30-8		5.11	
Tris(3-methylphenyl) phosphate	TmTP	563-04-2	$C_{21}H_{21}O_4P$	6.34	368.1177
Tris(4-methylphenyl) phosphate	TpTP	78-32-0		6.34	
Tris(2-butoxyethyl)phosphate	TBEP	78-51-3	$C_{18}H_{39}O_7P$	3.75	398.4718
Tris(3,5-dimethylphenyl)phosphate	T35DMPhP	25155-23-1	$C_{24}H_{27}O_4P$	7.98	410.1647
Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate	TDCPP	13674-87-8	$C_9H_{15}Cl_6O_4P$	3.65	427.8839
Tris(2-ethylhexyl)phosphate	TEHP	78-42-2	$C_{24}H_{51}O_4P$	9.49	434.3525
Tris(2-isopropylphenyl)phosphate	T2iPPhP	64532-95-2		9.07	
Tris(3-isopropylphenyl)phosphate	T3iPPhP	72668-27-0	$C_{27}H_{33}O_4P$	8.30	452.2116
Tris(4-isopropylphenyl)phosphate	T4iPPhP	26967-76-0		7.40	
Tris(2,3-dibromopropyl)phosphate	TDBPP	126-72-7	$C_9H_{15}Br_6O_4P$	4.29	691.5807

表 2 GPC 条件

LC Pump	SHIMADZU LC-20AD
Degasser	SHIMADZU DGU-20A
Column	Shodex CLNpak EV-2000 AC (20.0×300 mm, 16 μm) + EV-G AC (20.0×100 mm, 16 μm)
Column temperature	40 °C
Injection volume	2 mL
Mobile phase	Acetone:Cyclohexane(2:8)
Flow rate	5 mL/min

表 3-1 LC-MS/MS 測定条件

LC conditions	
LC	Waters Acquity UPLC H-Class Plus Binary
Column	Waters Acquity UPLC BEH C18 (2.1×100 mm, 1.7 μm)
Column temperature	40 ℃
Injection volume	2 μL
Mobile phase	A: Water B: Methanol A/B : 35/65（20 min）－15 min－0/100 (6 min)－0.1 min－35/65 (3.9 min)
Flow rate	0.2 mL/min
MS condition	
MS	Waters Xevo TQ-XS
Ionization mode	ESI-Positive
Scan type	SRM
Desolvation temperature	400 ℃
Capillary voltage	3.0 kV

表 3-2 MS/MS 条件(LC-MS/MS)

Target compounds	Retention time (min)	Cone Voltage (V)	Transition *m/z*	Collision energy (eV)	Surrogate
TEP	1.7	16	183.2>127.0 183.2>98.9 183.2>155.0	12 16 8	TEP-d_{15}
TCEP	1.9	32	285.0>98.9 285.0>160.8 285.0>222.9	24 18 14	TCEP-d_{12}
TCPP	3.6	4	327.0>98.9 327.0>174.9 327.0>80.8	24 14 58	TPrP-d_{21}
TPrP	3.6	22	225.3>98.9 225.3>140.9 225.3>183.0	18 10 8	TPrP-d_{21}
TDCPP	7.2	40	431.0>99.0 431.0>209.1 431.0>321.1	26 14 12	TDCPP-d_{15}
TPhP	7.5	36	327.0>152.0 327.0>251.0 327.0>214.9	32 28 26	TPhP-$^{13}C_{18}$
TDBPP	10.1	50	698.5>99.0 698.5>299.0 698.5>200.9	34 20 38	TDCPP-d_{15}
TBP	12.2	30	267.1>98.8 267.1>154.9 267.1>211.0	18 10 8	TBP-d_{27}
TBEP	17.1	34	399.3>199.0 399.3>142.9 399.3>82.9	16 18 18	TBEP-$^{13}C_6$
ToTP	24.2	46	369.2>165.0 369.2>90.9 369.2>166.0	44 34 44	TBEP-$^{13}C_6$
TmTP	25.4	24	369.2>165.1 369.2>90.9 369.2>243.0	42 34 28	TBEP-$^{13}C_6$
TpTP	25.8	70	369.2>165.0 369.2>90.9 369.2>243.0	44 42 28	TBEP-$^{13}C_6$
EHDPhP	28.1	22	363.2>251.0 363.2>152.8 363.2>214.9	14 32 34	TBEP-$^{13}C_6$
T35DMPhP	31.3	76	411.3>194.0 411.3>179.0 411.3>105.0	28 40 34	T4iPPhP-$^{13}C_{18}$
T2iPPhP	31.8	54	453.2>327.1 453.2>369.3 453.2>411.3	28 20 16	T4iPPhP-$^{13}C_{18}$
T3iPPhP	32.6	70	453.2>327.1 453.2>369.3 453.2>411.3	34 26 22	T4iPPhP-$^{13}C_{18}$
T4iPPhP	32.9	76	453.2>327.1 453.2>369.3 453.2>411.3	32 26 22	T4iPPhP-$^{13}C_{18}$
TEHP	35.2	26	435.4>98.8 435.4>71.0 435.4>211.0	12 12 8	T4iPPhP-$^{13}C_{18}$

表 3-2 MS/MS 条件（LC-MS/MS）（つづき）

Labeled target compounds	Retention time (min)	Cone Voltage (V)	Transition *m/z*	Collision energy (eV)	
TEP-d_{15}	1.7	26	198.2>102.0 198.2>134.1	16 12	Cleanup spike
TCEP-d_{12}	1.8	32	297.1>102.0 297.1>130.1	30 14	Cleanup spike
TPrP-d_{21}	3.4	22	246.3>102.0 246.3>150.1	18 12	Cleanup spike
TDCPP-d_{15}	6.9	40	446.1>102.0 446.1>332.2	24 12	Cleanup spike
TPhP-$^{13}C_{18}$	7.5	5	345.2>164.2 345.2>227.2	44 26	Cleanup spike
TBP-d_{27}	11.3	26	294.4>102.0 294.4>230.4	20 10	Cleanup spike
TBEP-$^{13}C_6$	17.1	48	405.4>303.3 405.4>201.1	12 16	Cleanup spike
TPhP-d_{15}	7.1	44	342.2>81.9 342.2>175.9	40 38	Syringe spike

表 4 OPFRs の PSA 固相ミニカラムからの溶出状況

(%)

Compounds	Fraction 1	Fraction 2
TEP	97.9	0.2
TCEP	94.8	0.5
TPrP	94.2	0.1
TCPP	96.6	1.9
TDCPP	96.9	0.4
TPhP	99.7	0.4
TDBPP	99.5	0.1
TBP	101.0	0.3
TBEP	97.7	0.2
ToTP	100.1	0.0
TmTP	94.7	0.2
TpTP	105.1	0.1
EHDPhP	106.3	0.1
T35DMPhP	75.5	0.1
T2iPPhP	102.0	0.1
T3iPPhP	102.0	0.1
T4iPPhP	103.8	0.5
TEHP	91.3	0.1

表 5 サーモン試料における PSA ミニ固相カラムからの回収率

Compounds	Internal Standard Method	Absolute Calibration Method	
	Recovery (%)	Recovery (%)	Matrix Standard /Standard
TEP	83	79	1.01
TCEP	103	81	0.90
TPrP	96	93	1.02
TCPP	98	94	1.01
TDCPP	106	93	0.98
TPhP	105	95	1.00
TDBPP	104	91	0.97
TBP	99	97	1.03
TBEP	100	98	1.02
ToTP	96	94	1.02
TmTP	100	98	1.00
TpTP	96	95	0.97
EHDPhP	96	94	0.98
T35DMPhP	102	82	0.87
T2iPPhP	98	79	0.79
T3iPPhP	85	68	0.69
T4iPPhP	101	81	0.78
TEHP	103	83	0.80

表 6 OPFRs の検出下限値

Compounds	Blank	GPC ng/g	GPC+PSA ng/g
TEP	○	0.9820	0.2171
TCEP	○	0.2387	0.1865
TPrP		0.0023	0.0017
TCPP	○	0.8793	0.7177
TDCPP	○	0.1013	0.1028
TPhP		0.0747	0.1188
TDBPP		0.0038	0.0041
TBP	○	0.0909	0.0717
TBEP	○	0.0107	0.0082
ToTP		0.0128	0.0137
TmTP		0.0108	0.0098
TpTP		0.0065	0.0069
EHDPhP		0.0038	0.0037
T35DMPhP		0.0004	0.0004
T2iPPhP		0.0035	0.0028
T3iPPhP		0.0054	0.0069
T4iPPhP	○	0.0177	0.0164
TEHP	○	0.0081	0.0116

表 7 検出下限値相当濃度における OPFRs 摂取量の試算

Compounds	GPC		GPC+PSA		TDI (mg/kg/day)
	Intake* (mg/kg/day)	%	Intake* (mg/kg/day)	%	
TEP	0.00004	0.004	0.00001	0.001	1.000
TCEP	0.00001	0.00002	0.000008	0.00002	0.022
TCPP	0.00004	0.0001	0.00003	0.0001	0.036
TDCPP	0.000005	0.000007	0.000005	0.000007	0.0153
TPhP	0.000003	0.00005	0.000005	0.00009	0.161
TBP	0.000004	0.000004	0.000003	0.000003	0.009
TBEP	0.0000005	0.0000007	0.0000004	0.0000006	0.015
ToTP	0.0000006	0.0000003	0.0000006	0.0000003	0.005
TmTP	0.0000005	0.0000002	0.0000004	0.0000002	0.005
TpTP	0.0000003	0.0000001	0.0000003	0.0000002	0.005

*Calculated based on body weight of 50 kg and daily intakes of 316.1 g (group1), 151.5 g (group2), 31.0 g (group3), 10.6 g (group4), 60.4 g (group5), 85.6 g (group6), 87.3 g (group7), 194.0 g (group8), 665.5 g (group9), 58.2 g (group10), 145.7 g (group11), 119.1 g (group12), 65.3 g (group13) and 250 g (group14)

表 8 OPFRs の添加回収試験結果

Compounds	Salmon(GPC+PSA)		Salmon (GPC)		Brown rice	milk
	Recovery (%)	%RSD*	Recovery (%)	%RSD*	Recovery (%)	Recovery (%)
TEP	98	0.4	96	1.7	107	107
TCEP	96	1.2	94	1.4	105	107
TPrP	95	1.1	97	0.8	105	105
TCPP	98	1.6	83	1.9	106	106
TDCPP	101	0.6	102	3.1	112	107
TPhP	95	1.2	94	1.7	104	105
TDBPP	106	6.6	109	15.8	78	104
TBP	96	0.6	95	0.5	107	107
TBEP	97	0.5	95	0.8	102	107
ToTP	90	5.3	81	0.5	100	104
TmTP	88	4.0	81	2.7	98	105
TpTP	90	3.1	81	9.6	106	109
EHDPhP	112	4.1	72	17.8	94	102
T35DMPhP	120	3.6	95	1.8	59	134
T2iPPhP	104	4.0	83	5.7	82	114
T3iPPhP	97	5.9	88	8.9	95	112
T4iPPhP	96	1.1	95	4.4	101	107
TEHP	75	4.3	75	12.5	89	56
TEP-d_{15}	73	4.4	87	10.0	72	72
TCEP-d_{12}	69	7.5	47	2.5	69	84
TPrP-d_{21}	90	1.7	106	10.6	92	90
TDCPP-d_{15}	80	5.2	58	6.0	75	89
TPhP-$^{13}C_{18}$	91	1.3	94	3.3	88	88
TBP-d_{27}	92	2.3	110	8.4	95	90
TBEP-$^{13}C_6$	96	3.1	114	8.4	96	90
T4iPPhP-$^{13}C_{18}$	52	12.9	50	13.4	71	61

*n=3

表 9 食品試料の分析結果

(ng/g)

Compounds	Salmon (GPC+PSA)	Brown rice (GPC)	Milk (GPC)	TD-Group1 (GPC)	TD-Group12 (GPC)
TEP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TCEP	<LOD	0.35	0.30	0.35	0.45
TPrP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TCPP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TDCPP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TDBPP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TBP	<LOD	0.50	<LOD	0.10	<LOD
TBEP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
ToTP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TmTP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TpTP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
EHDPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.07
T35DMPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
T2iPPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
T3iPPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
T4iPPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TEHP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

<LOD:Under the limit of detection

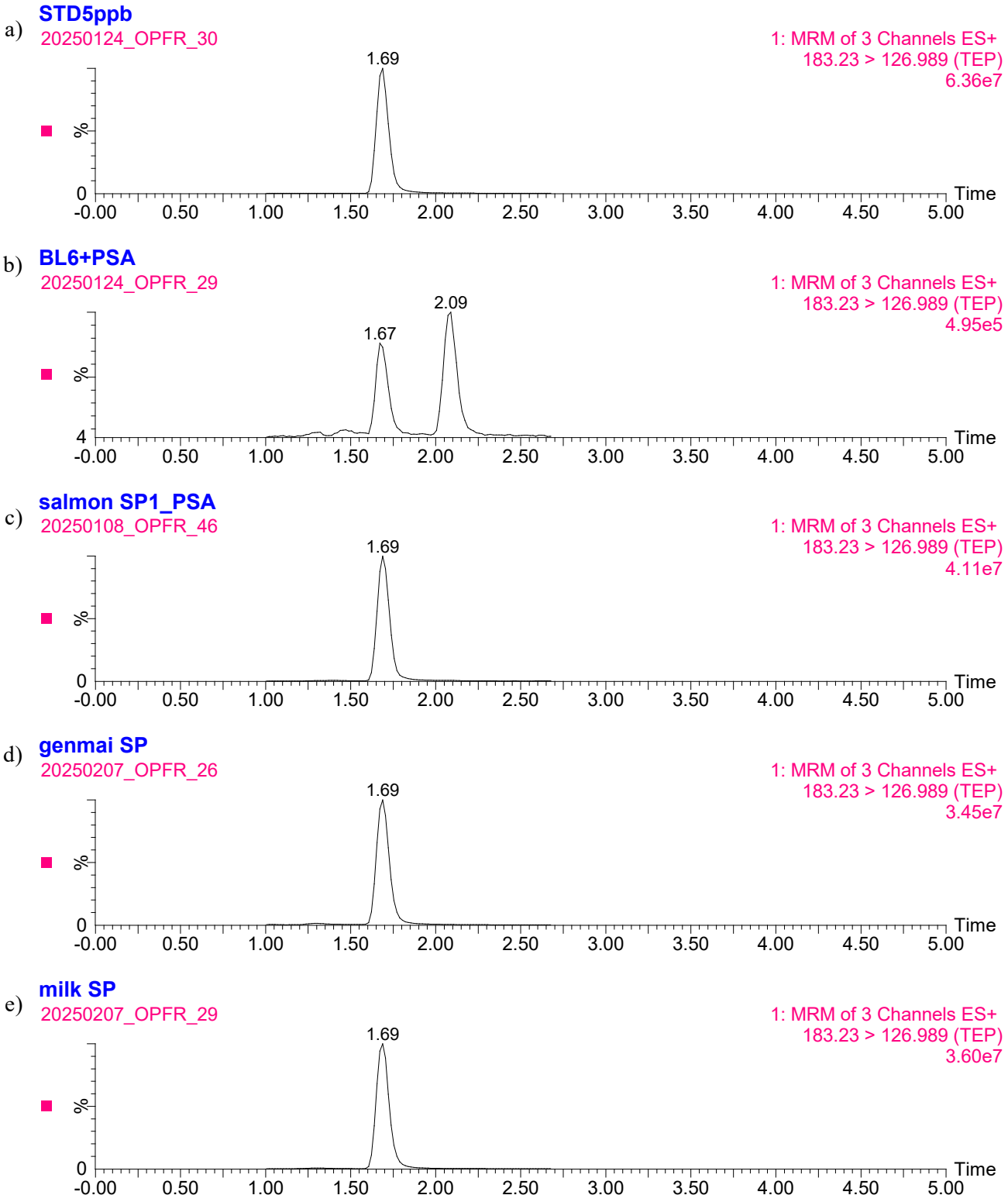


図 1 TEP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

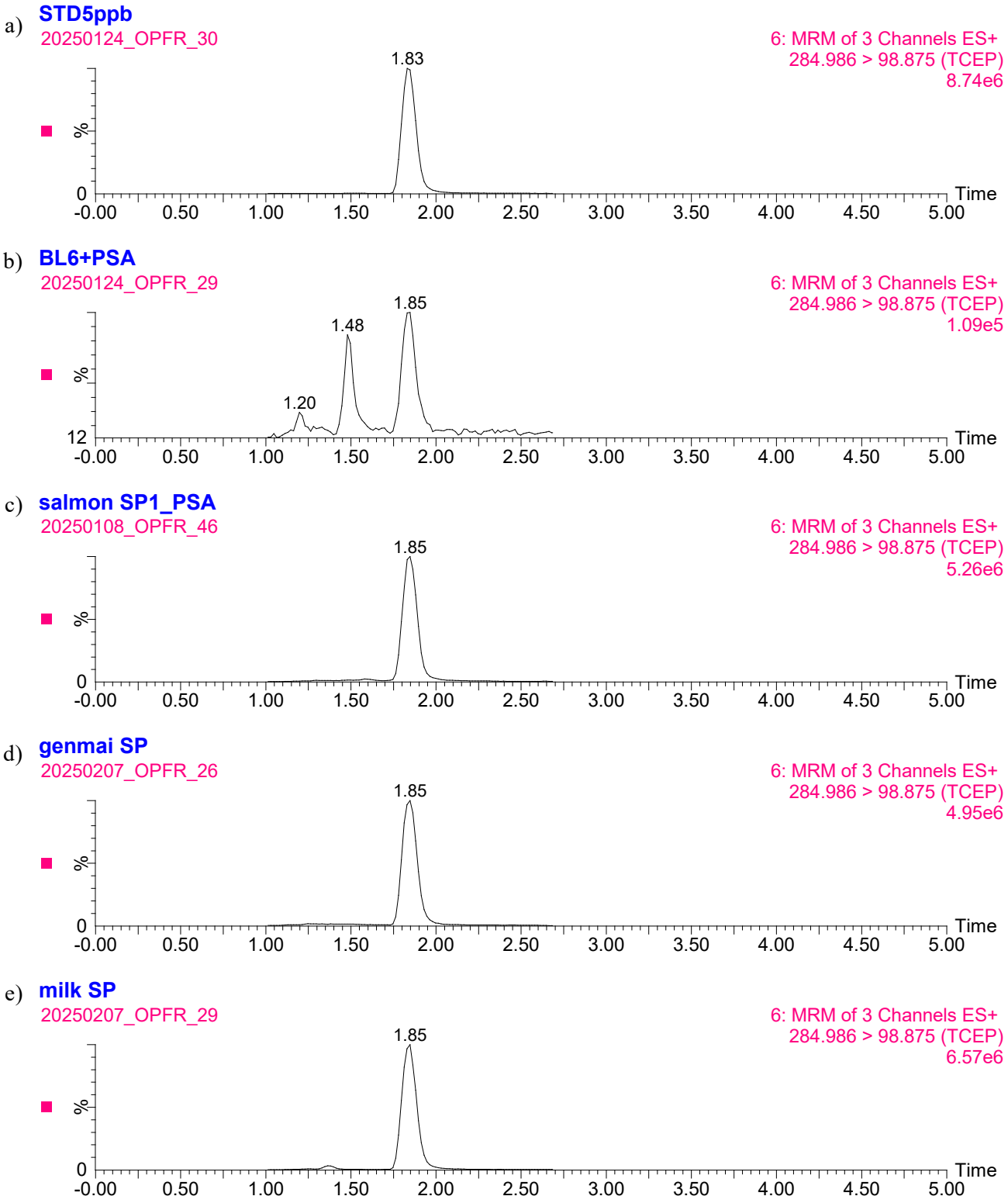


図 2 TCEP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

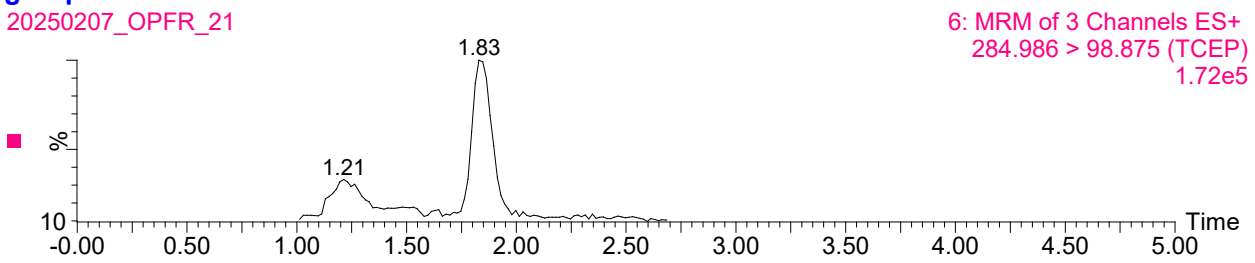
b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

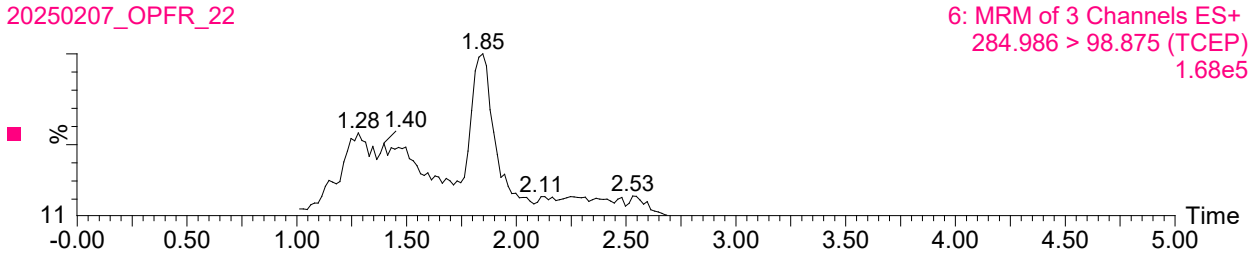
d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

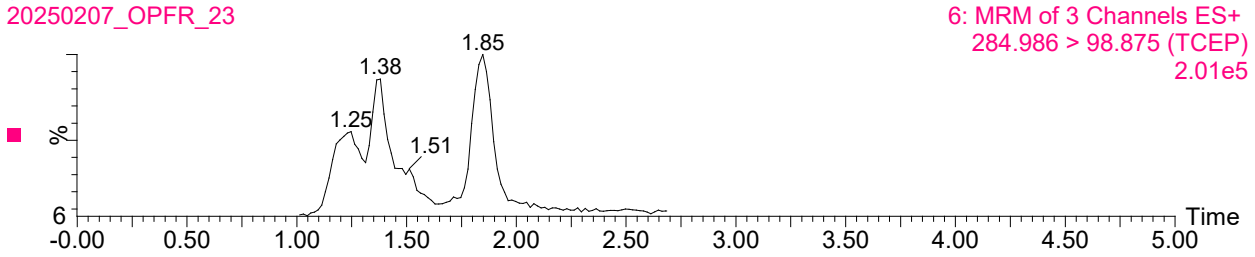
f) **group1**



g) **genmai**



h) **group12**



i) **milk**

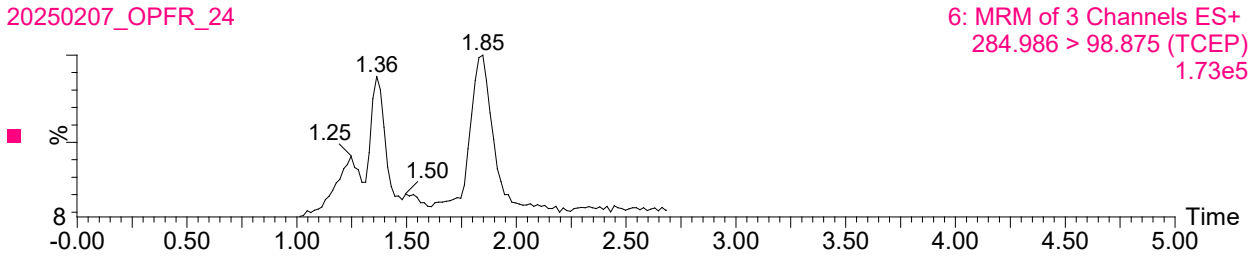


図 2 TCEP の SRM クロマトグラム（つづき）

f)試料（1 群）

g)試料（玄米）

h)試料（12 群）

i)試料（牛乳）

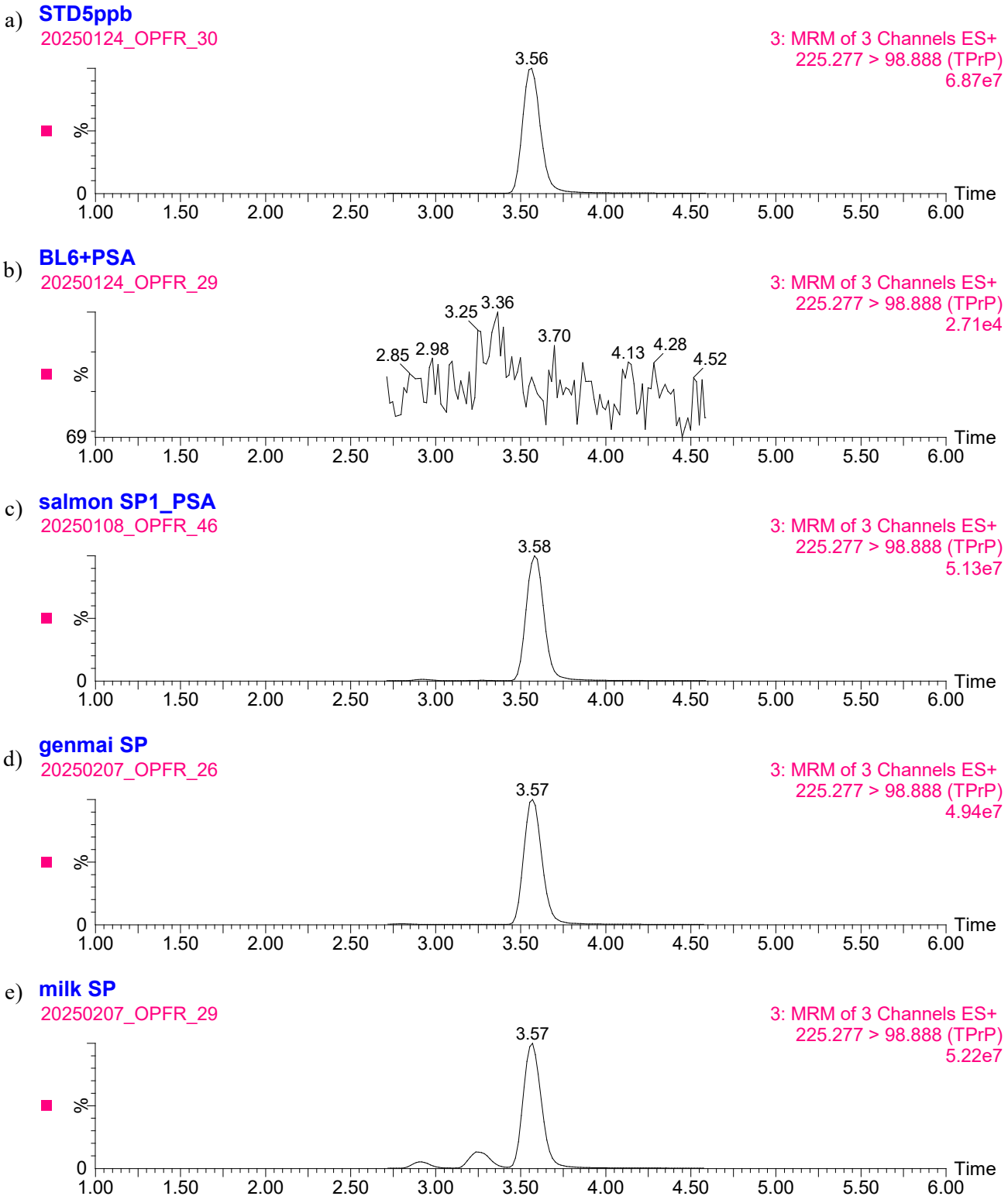


図 3 TPrP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

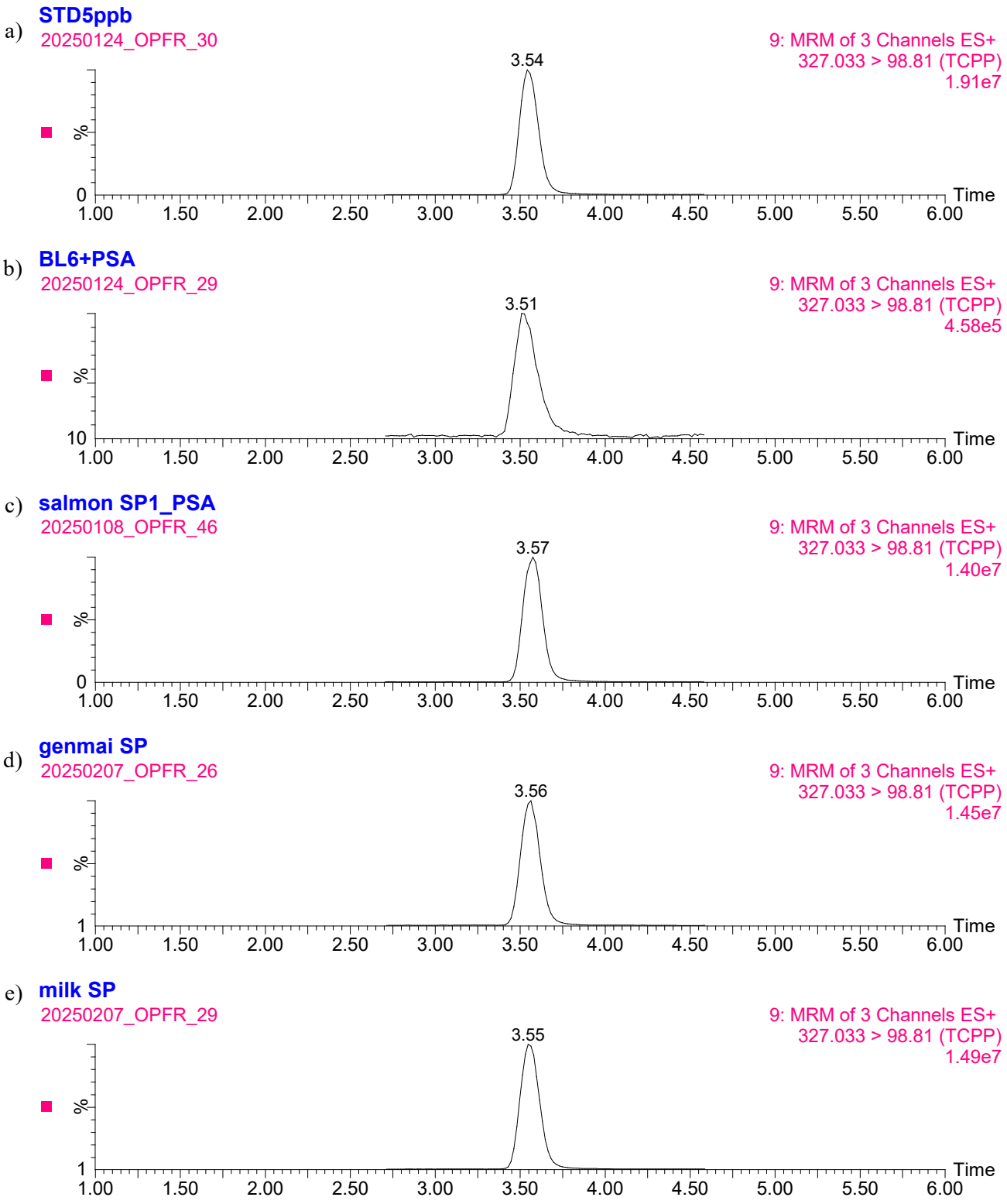


図 4 TCPP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）
b)ブランク試料（GPC+PSA）
c)添加回収試料（サーモン）
d)添加回収試料（玄米）
e)添加回収試料（牛乳）

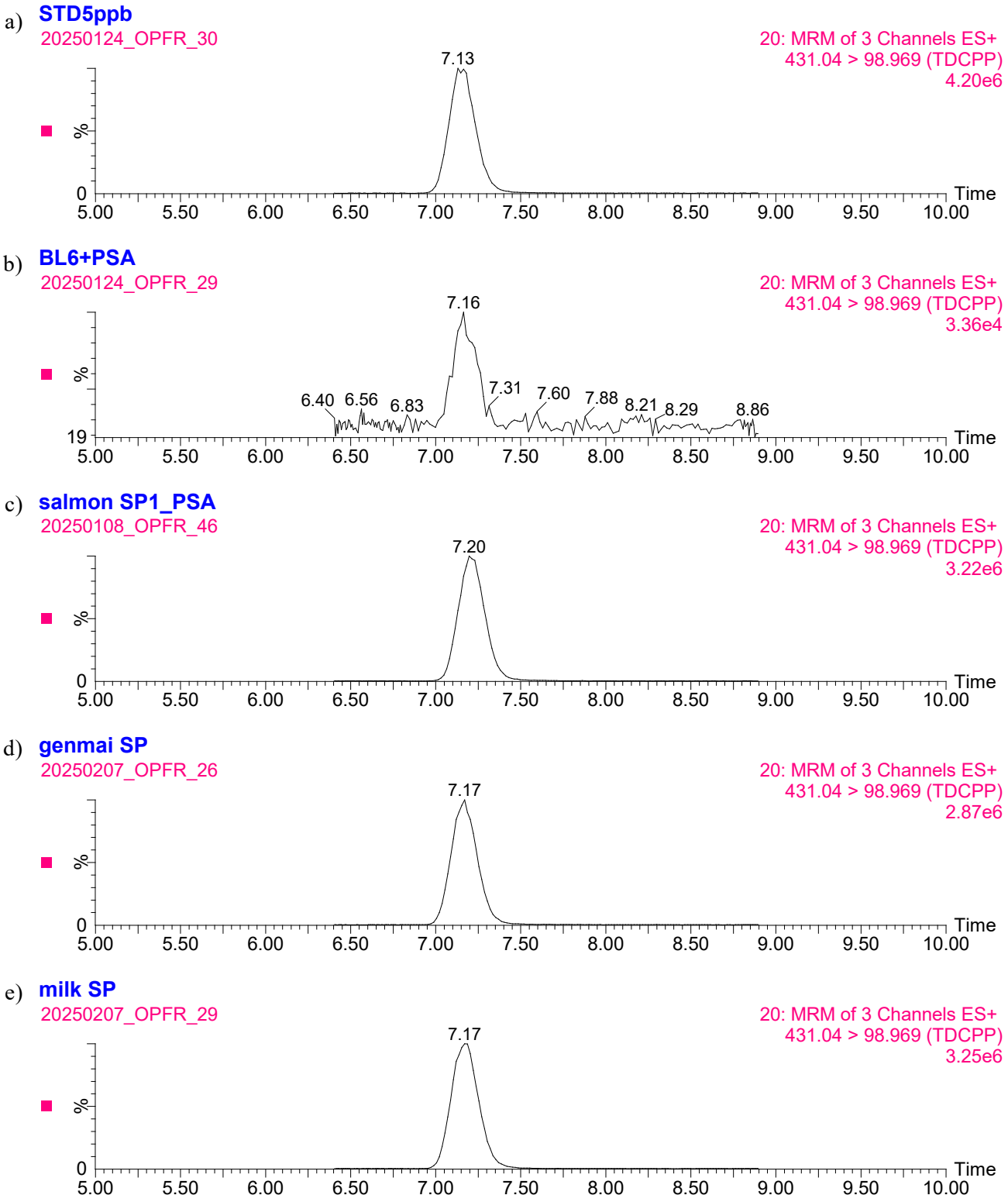


図 5 TDCPP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

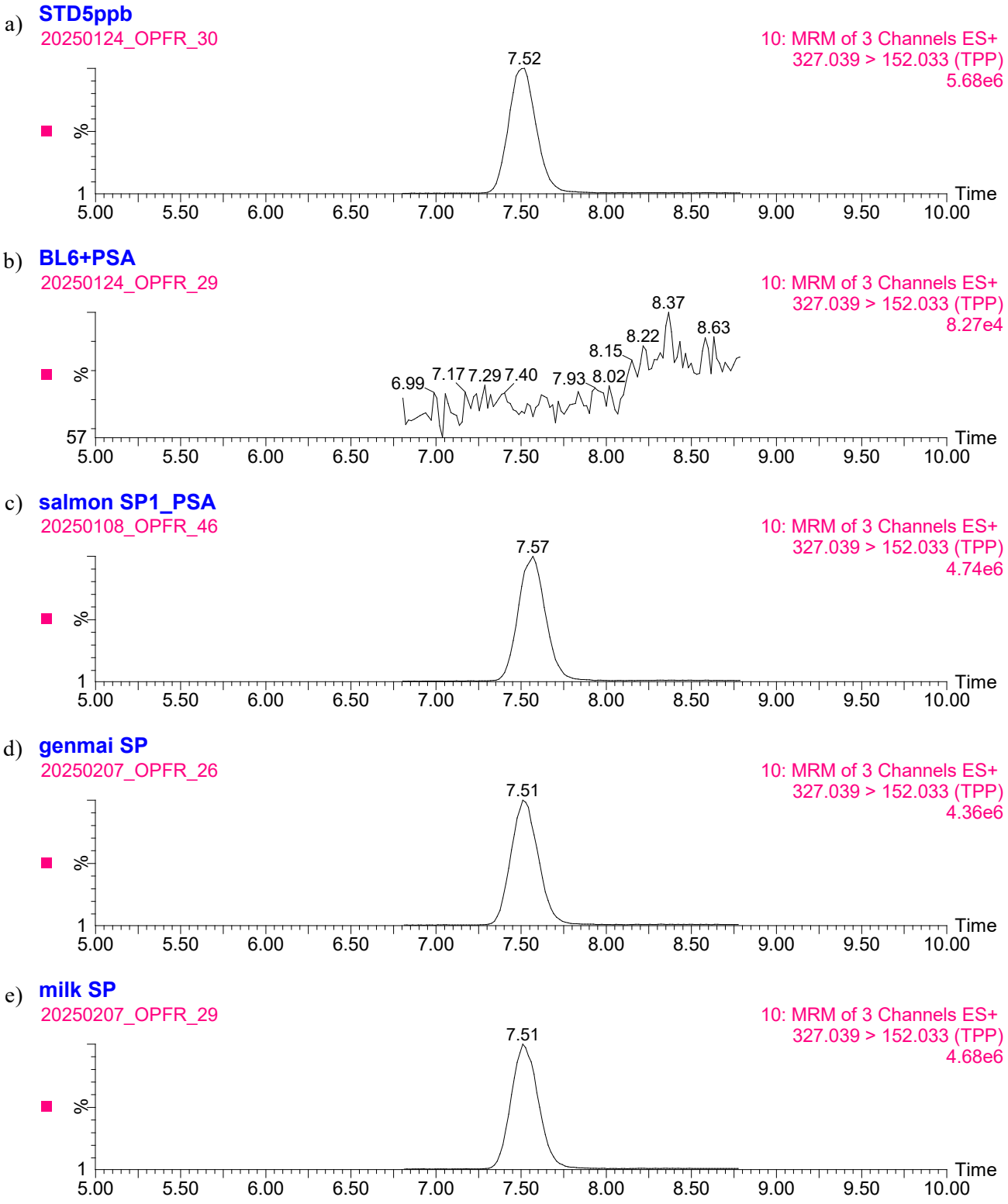


図 6 TPhP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

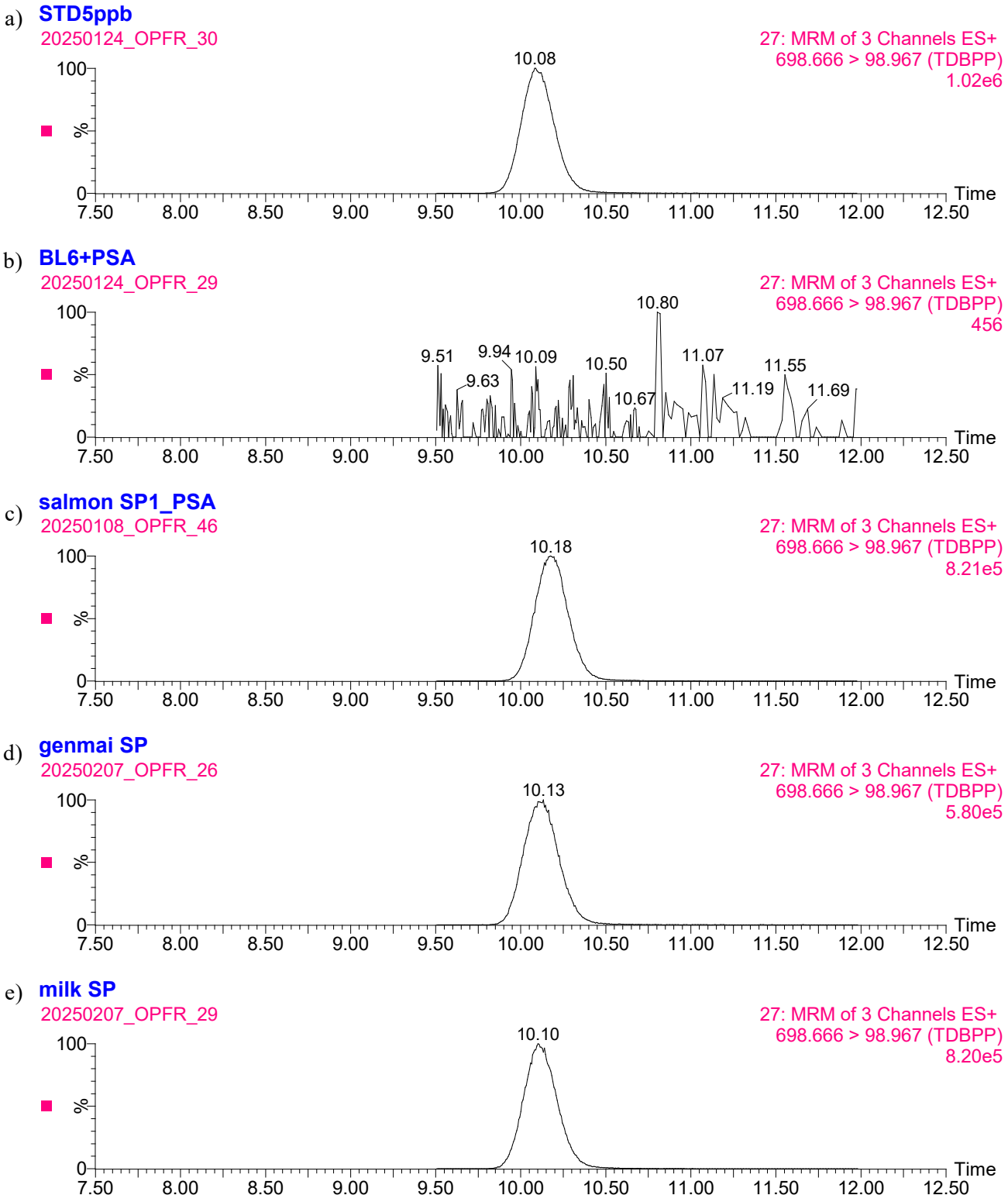


図 7 TDBPP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

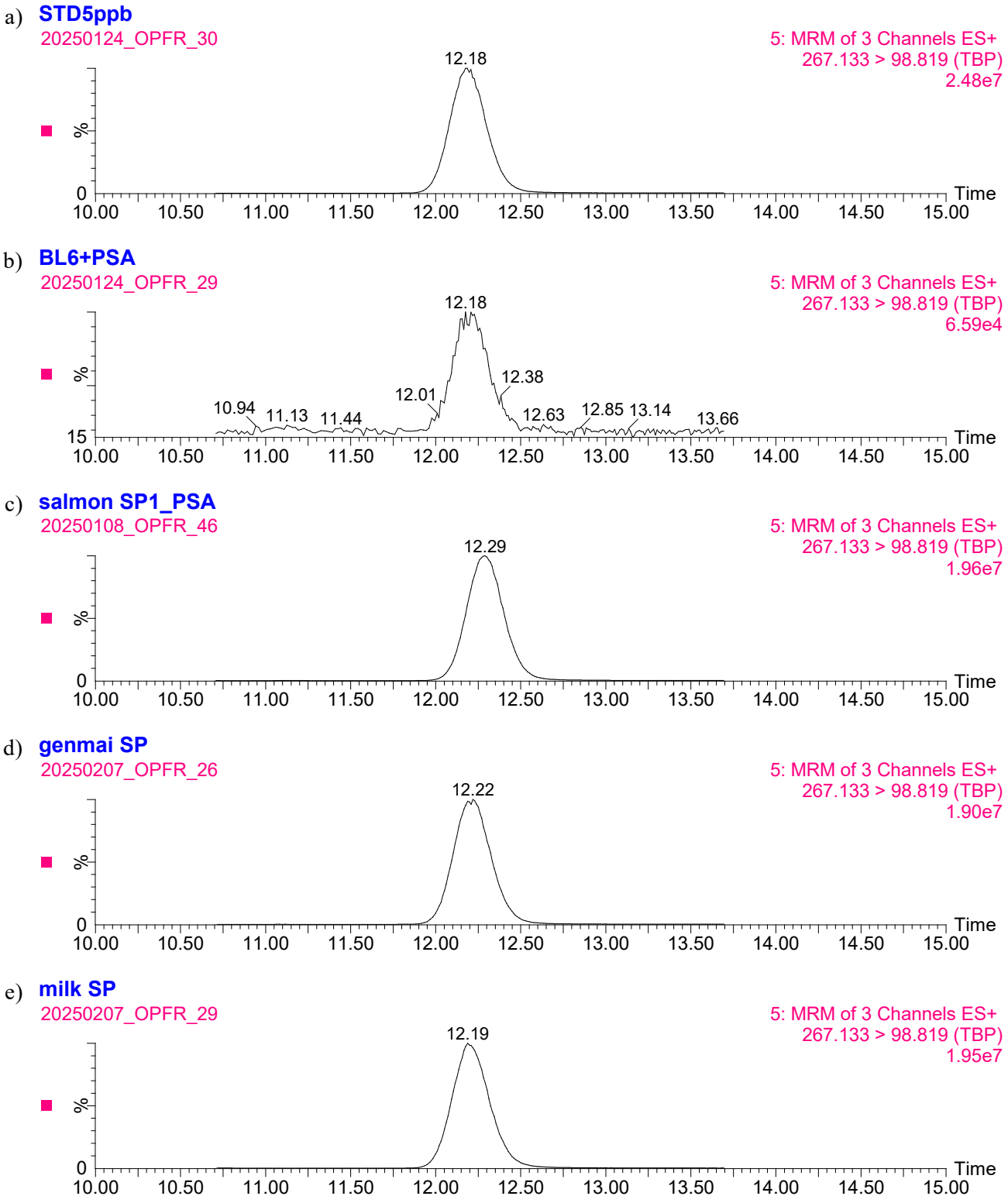
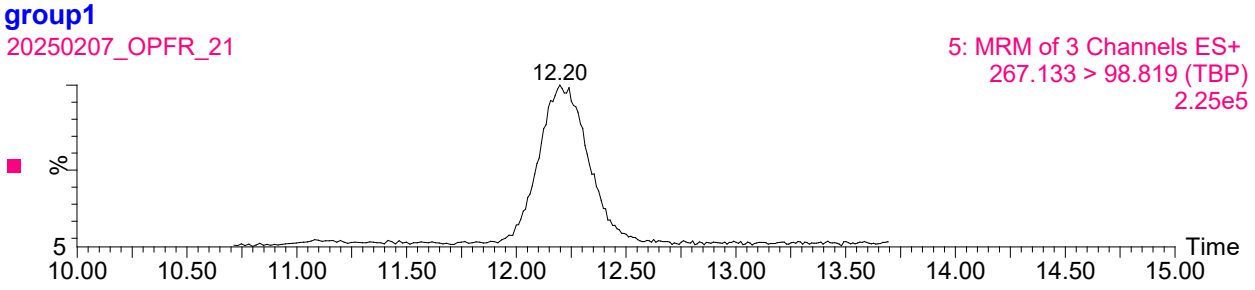


図 8 TBP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）
b)ブランク試料（GPC+PSA）
c)添加回収試料（サーモン）
d)添加回収試料（玄米）
e)添加回収試料（牛乳）

f)



g)

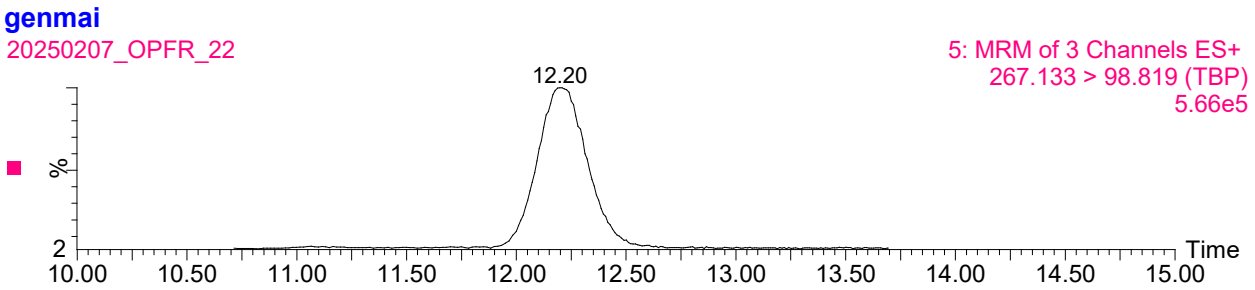


図 8 TBP の SRM クロマトグラム（つづき）

f)試料（1 群）

g)試料（玄米）

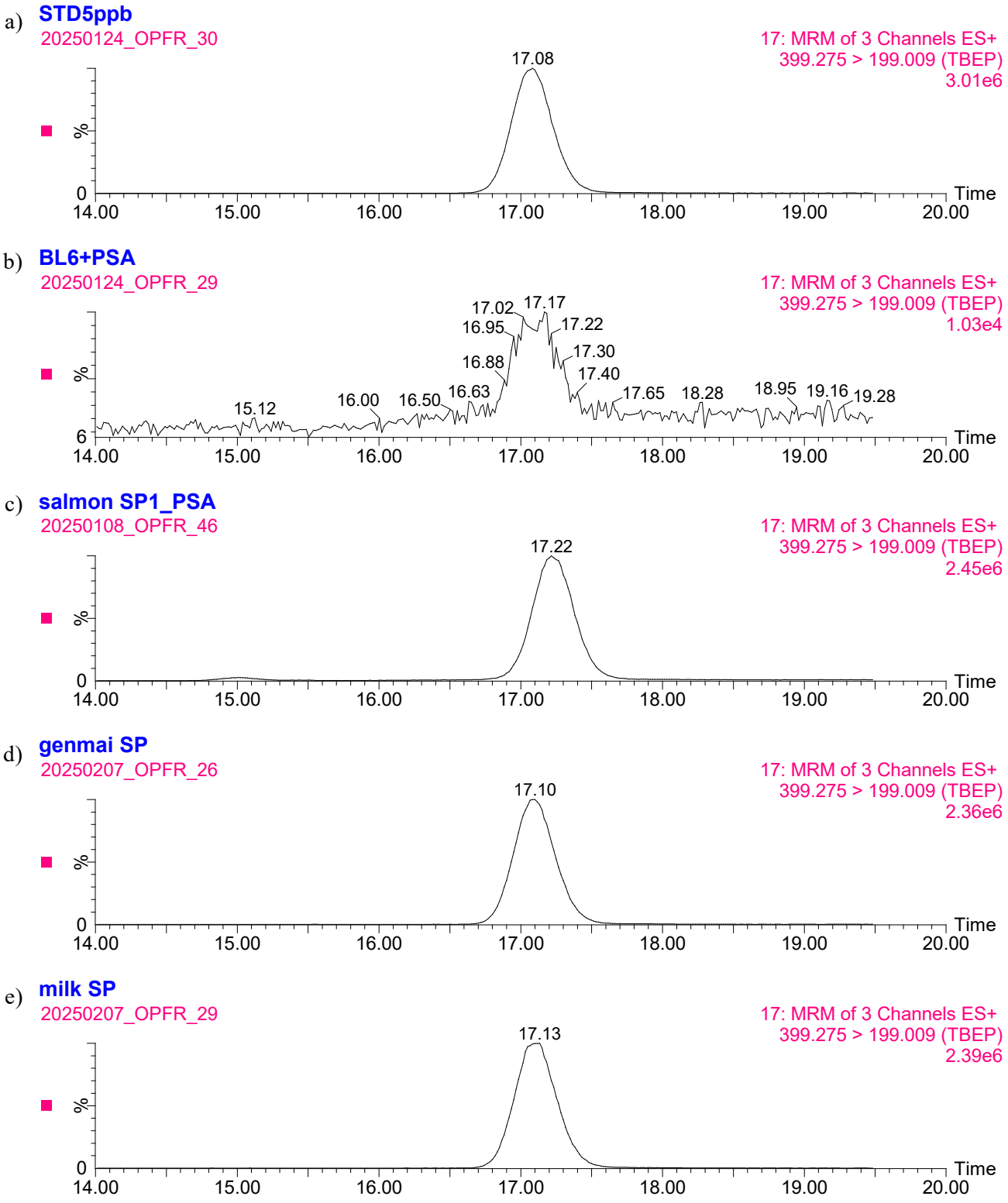


図 9 TBEP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

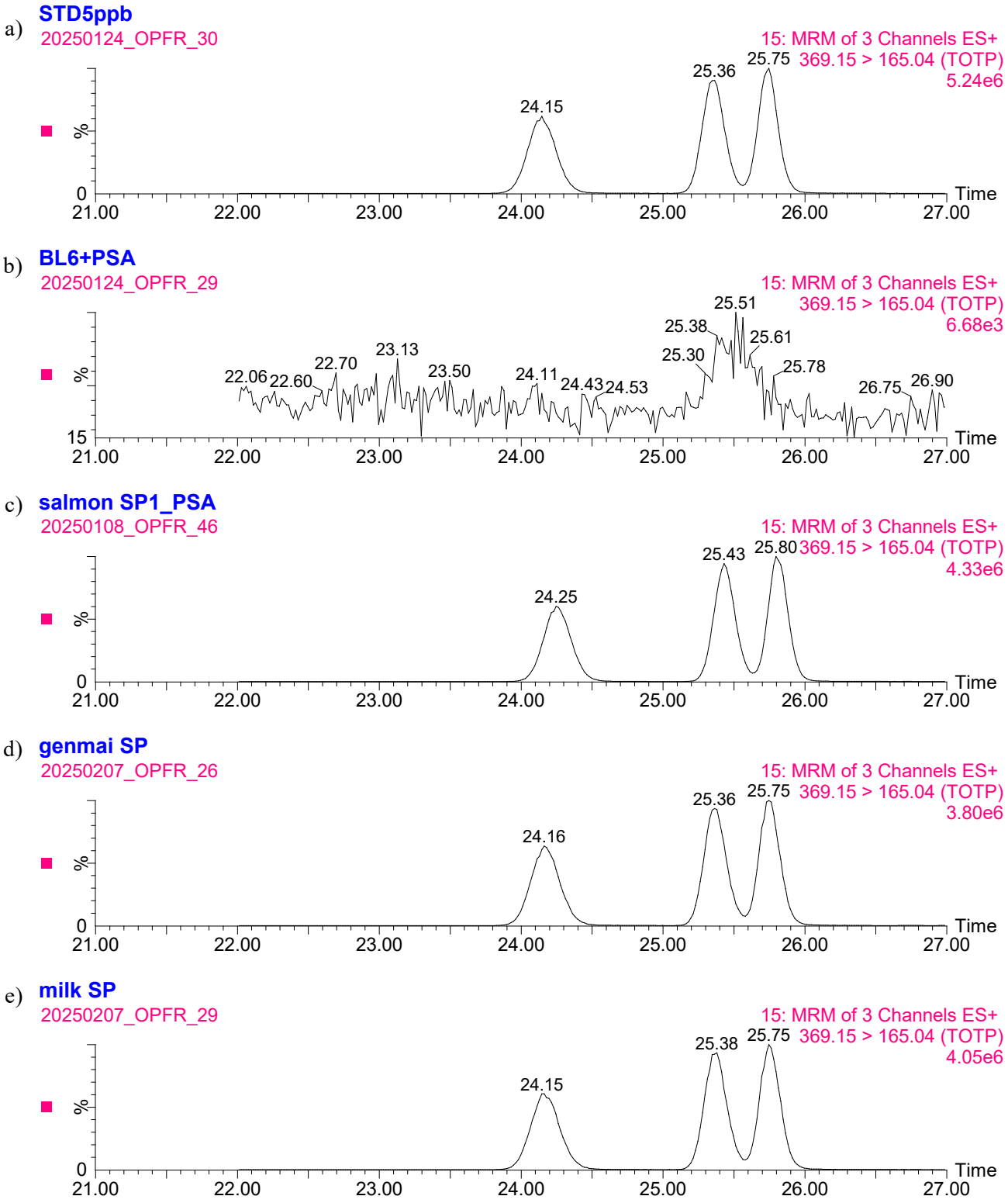


図 10 ToTP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

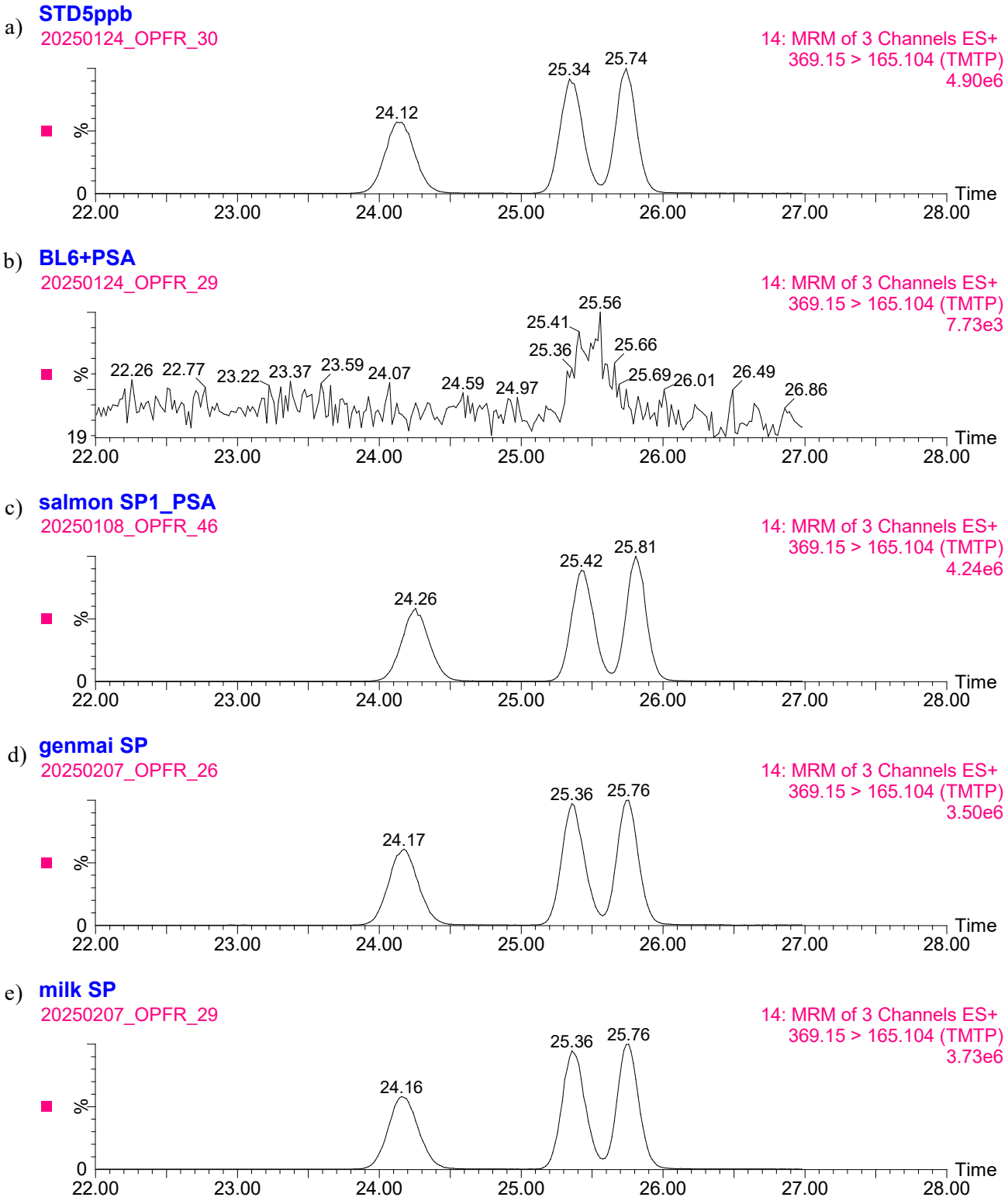


図 11 TmTP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

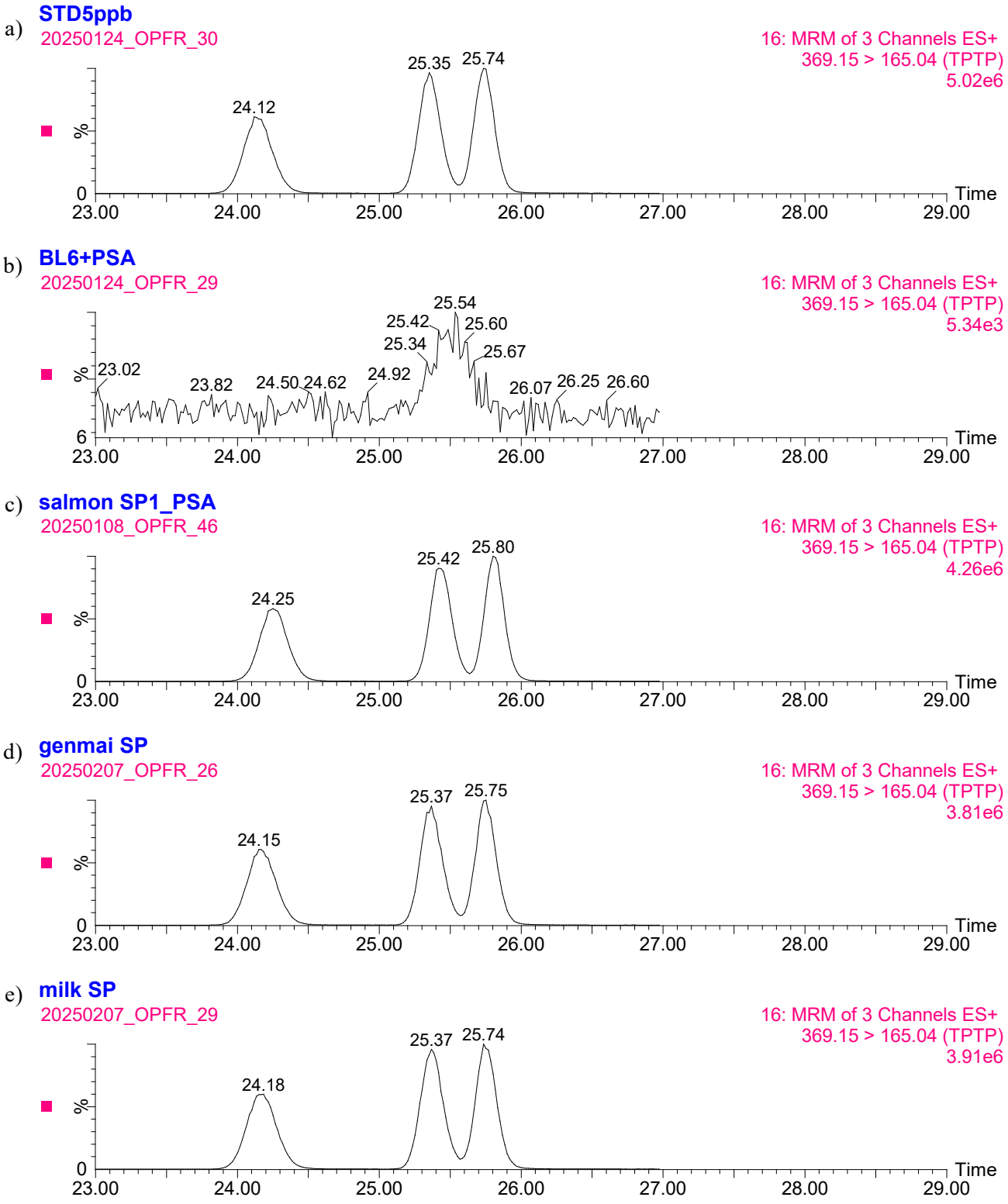


図 12 TpTP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

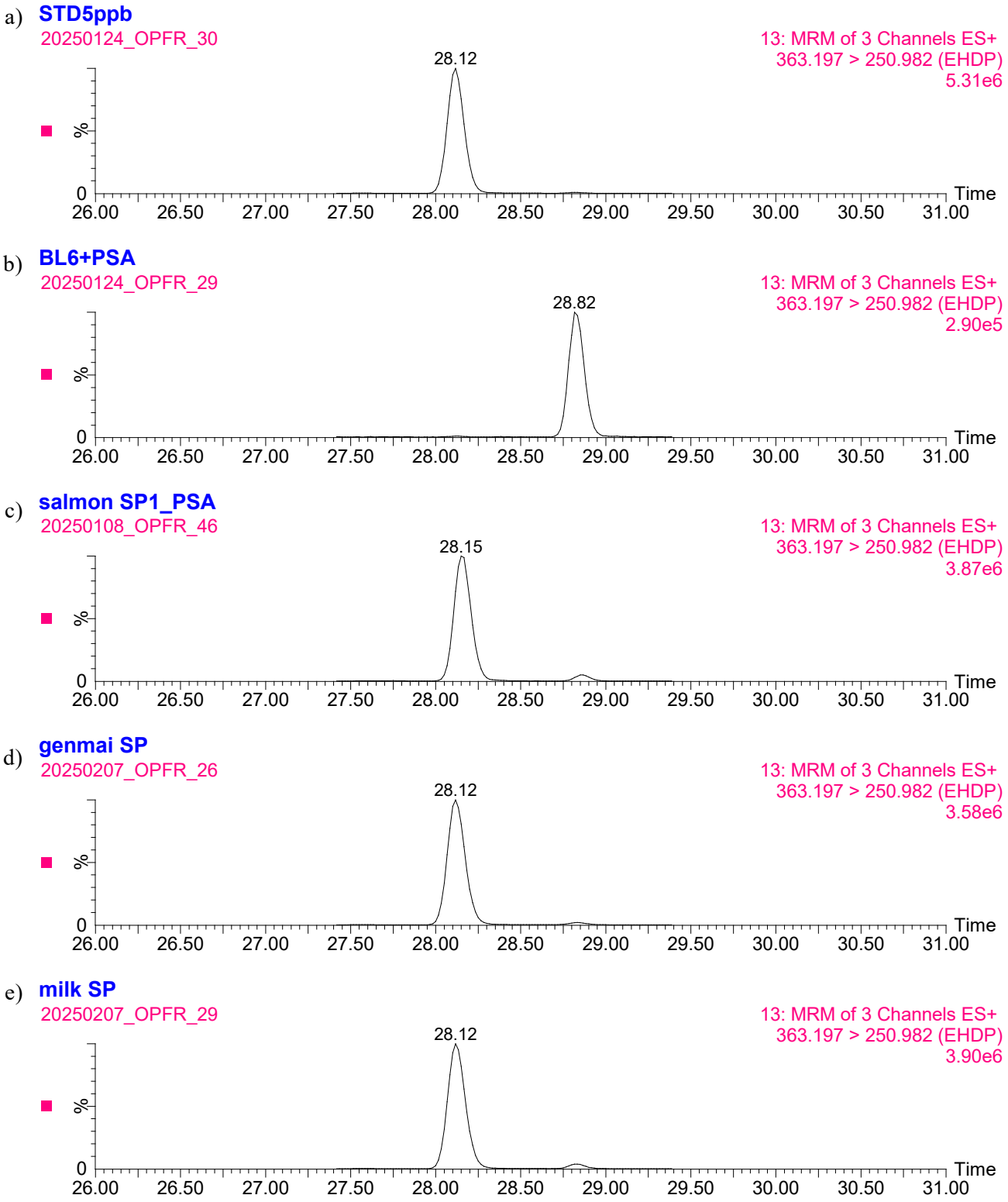


図 13 EHDPhP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

f)

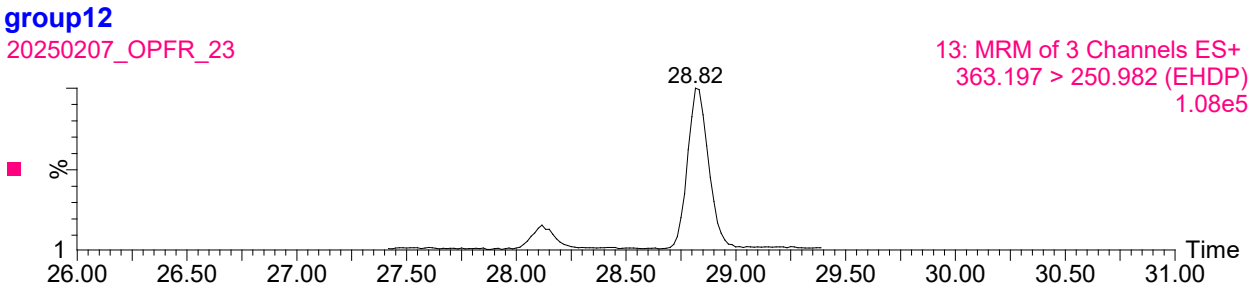


図 13 EHDPhP の SRM クロマトグラム（つづき）

f)試料（12 群）

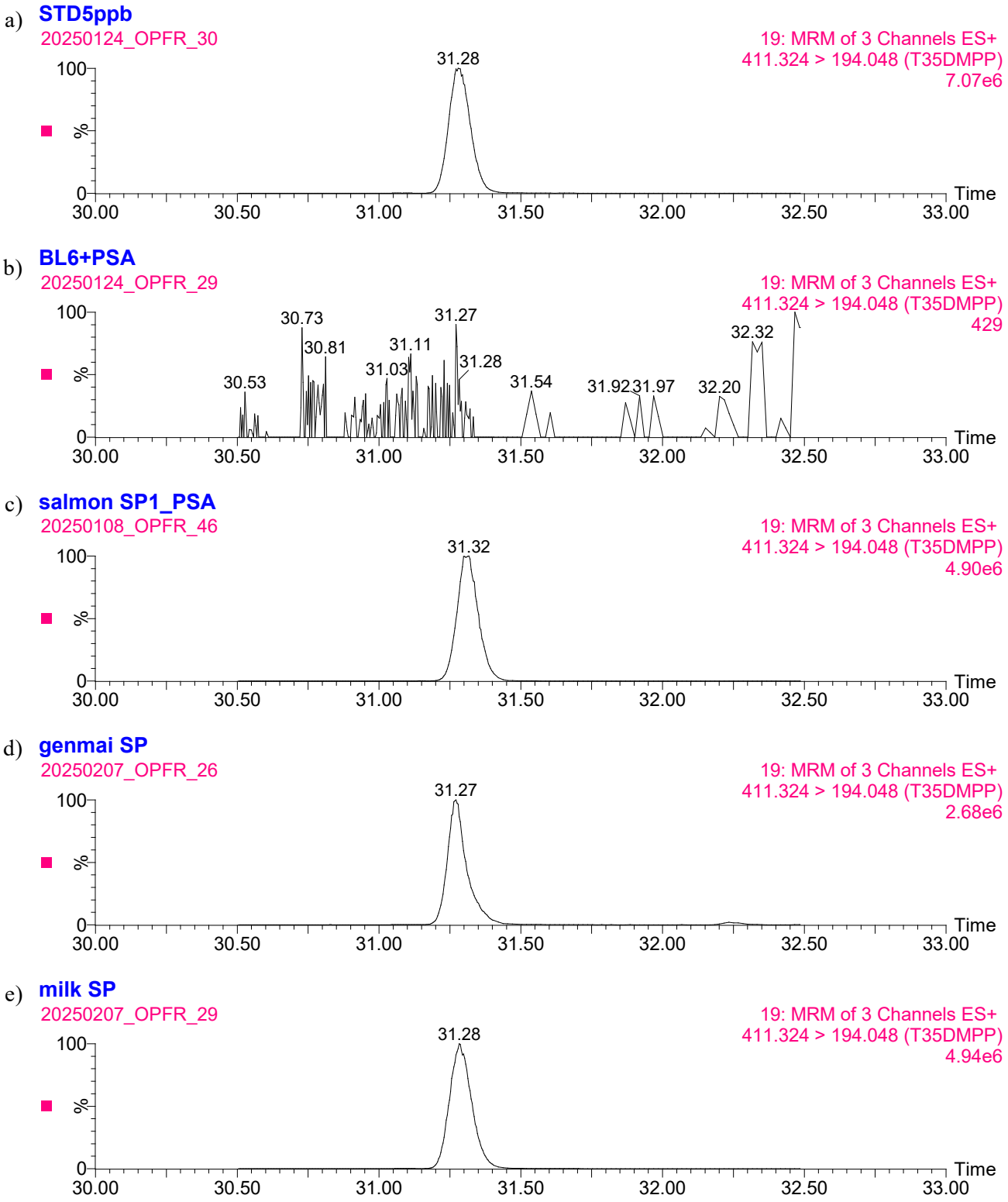


図 14 T35DMPhP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

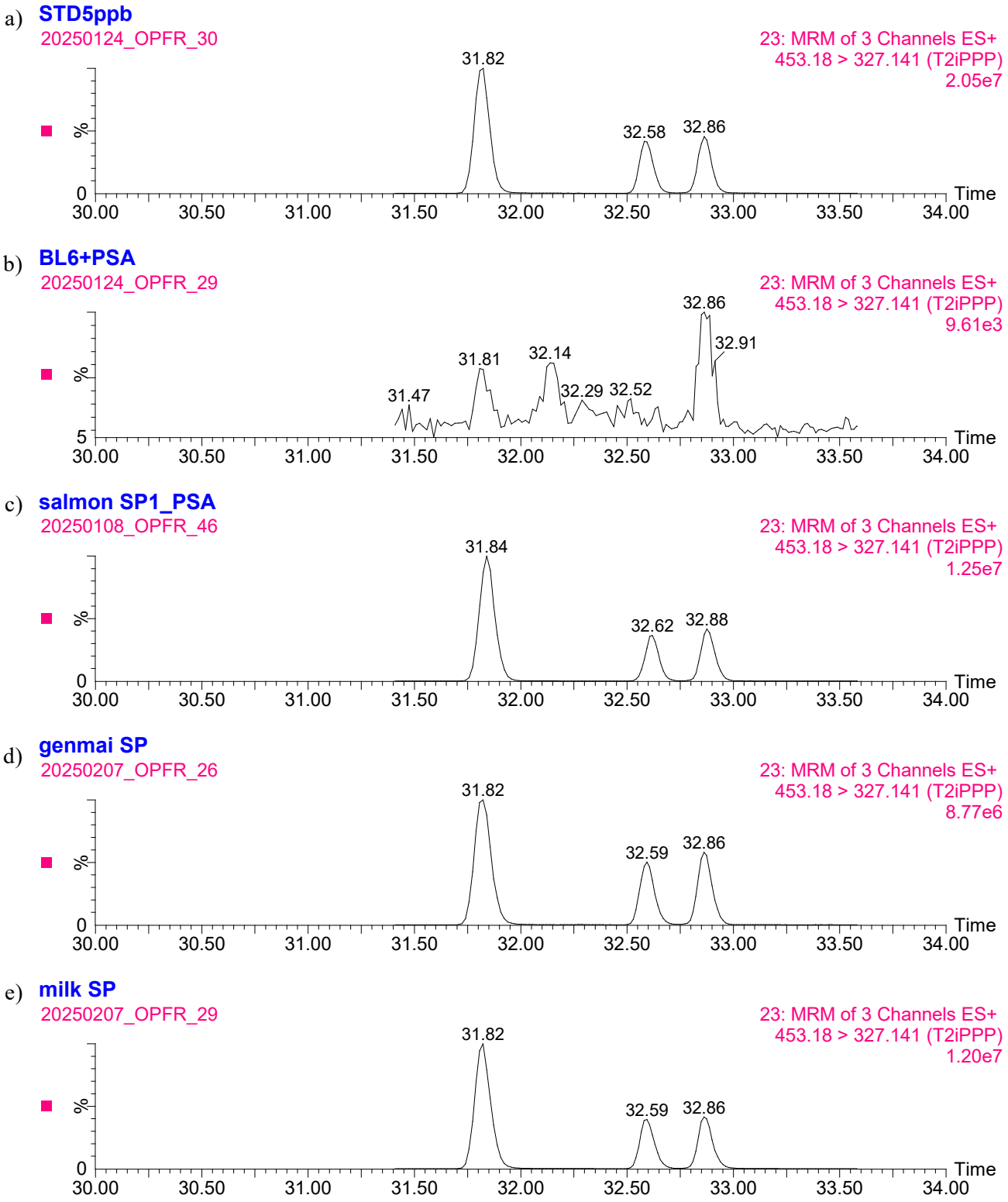


図 15 T2iPPhP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

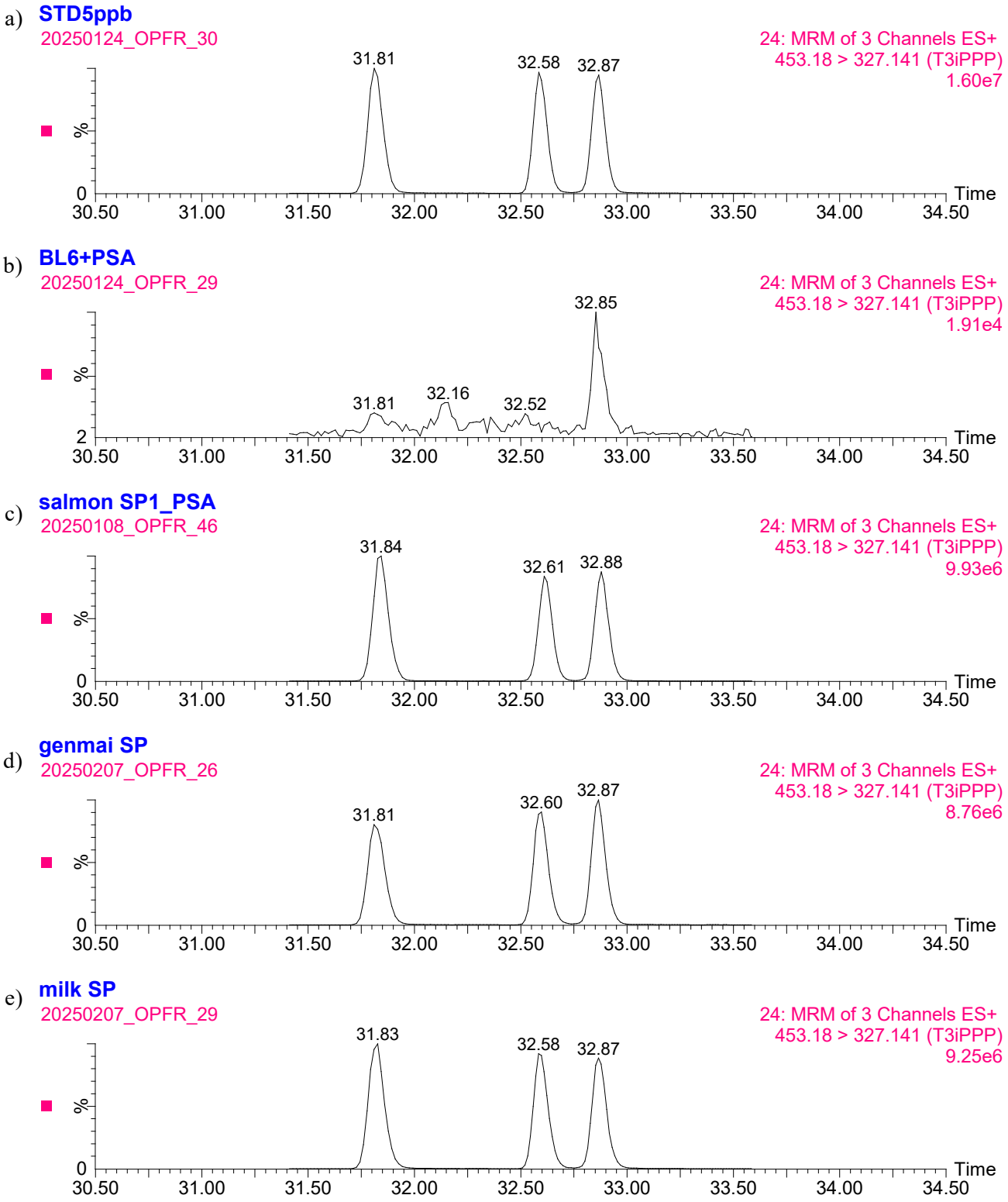


図 16 T3iPPhP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

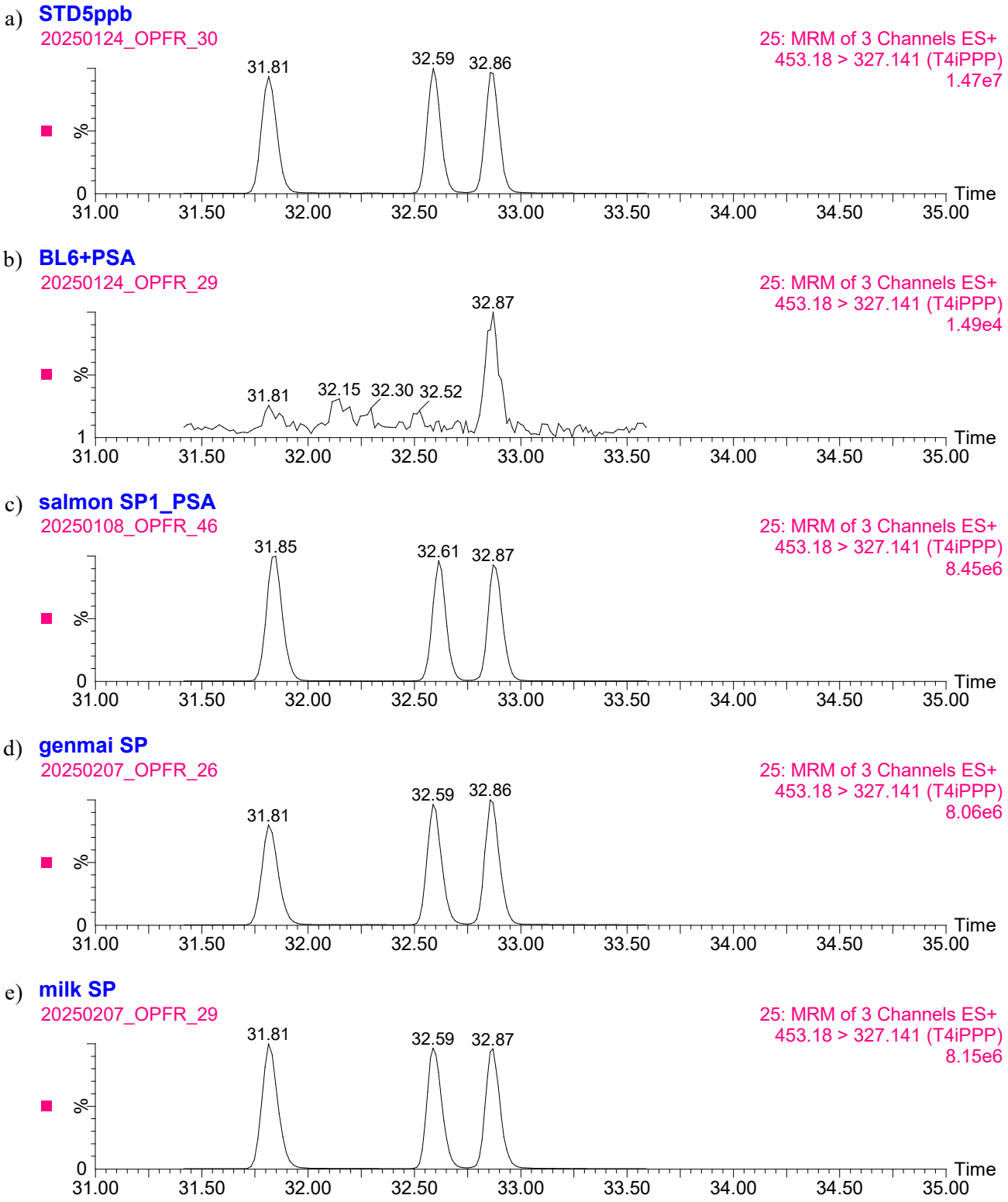


図 17 T4iPPhP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)ブランク試料（GPC+PSA）

c)添加回収試料（サーモン）

d)添加回収試料（玄米）

e)添加回収試料（牛乳）

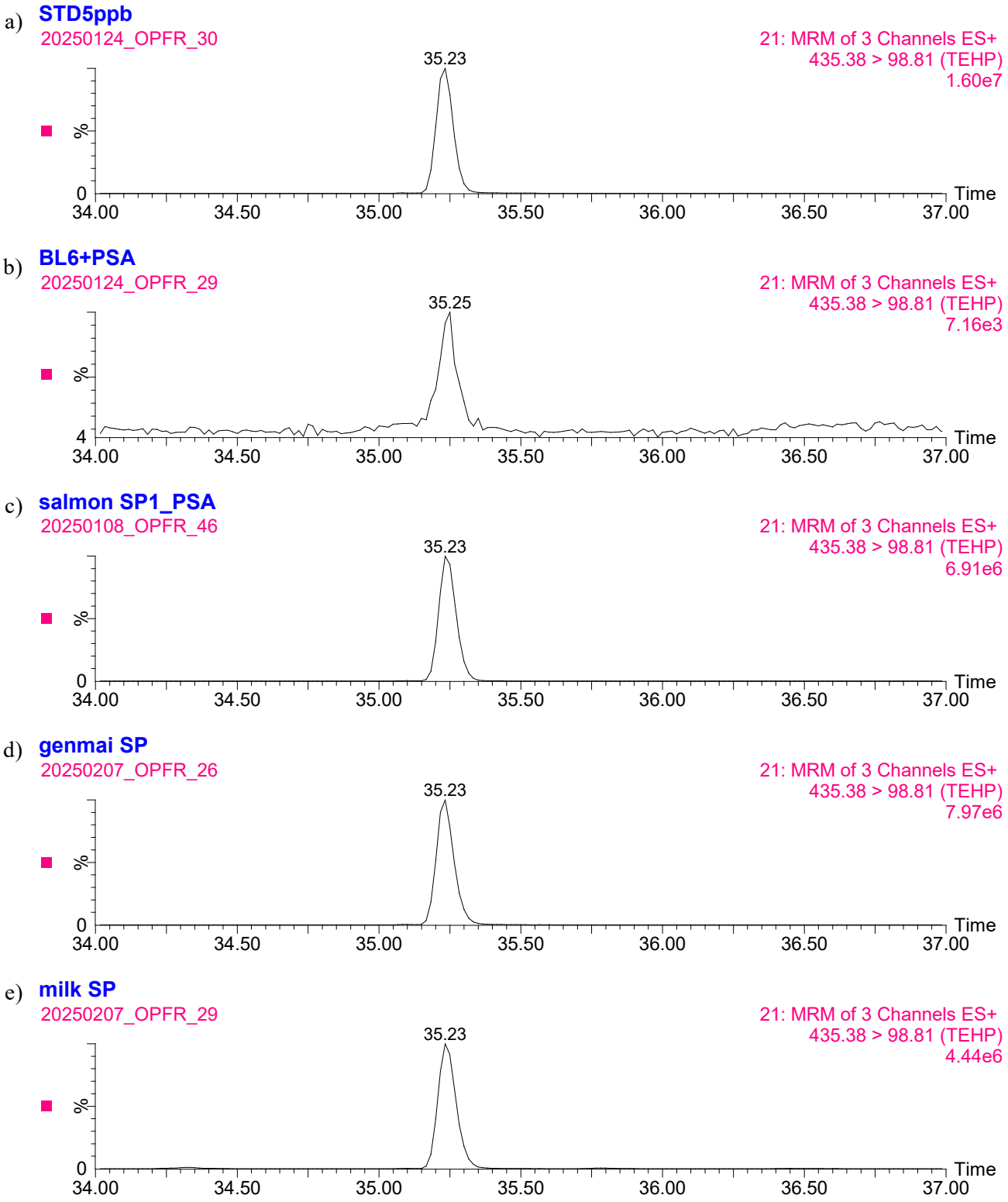


図 18 TEHP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）
b)ブランク試料（GPC+PSA）
c)添加回収試料（サーモン）
d)添加回収試料（玄米）
e)添加回収試料（牛乳）

Ⅱ．分担研究報告書

(4)母乳のダイオキシン類汚染の実態調査と乳幼児の発達への影響に関する研究

研究分担者　鹿嶋　晃平

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

(4) 母乳のダイオキシン類汚染の実態調査と乳幼児の発達への影響に関する研究

研究分担者　鹿嶋 晃平　東京大学医学部附属病院総合周産期母子医療センター

研究要旨

ダイオキシン類は主に食物を介して摂取され、分解されることが少なく体内に蓄積される。これまでの厚生労働科学研究で、女性の場合に母体が妊娠するまでに摂取したダイオキシン類が脂肪組織内に蓄積され、出産後に母乳内に分泌され、結果として乳児のダイオキシン類汚染の主な経路となっていることが明らかになっている。科学的には母乳は乳児にとって最適の栄養であることが示されているが、周産期のダイオキシン類曝露とその後の発達への影響が注目されてきており、母乳中のダイオキシン類濃度に注意する必要がある。1997年度より厚生労働科学研究班では継続的に母乳中のダイオキシン類濃度を測定するとともに、児の健康発達への影響調査を行ってきた。この継続的な調査結果により、母乳中ダイオキシン類濃度は1970年代と比較し著明に改善していることが明らかになってきている。ただし、第1子が母乳で育てられている場合に、生後1か月の時点でダイオキシン類対策特別措置法にて規定されている耐用一日摂取量（TDI）の約10倍のダイオキシン類を摂取しており、ダイオキシン類汚染は母乳栄養の上で課題として残されている。本研究では引き続き、乳児の栄養食品という観点でダイオキシン類汚染の状況の評価を行った。初産婦の出産後1か月の母乳中のダイオキシン類濃度(PCDDs+PCDFs+Co-PCBsの合計)は、WHO2005年の毒性等価係数を用いた毒性等価量の計算では5.04±1.74 pg-TEQ/g-fat(平均±標準偏差)であった。平均値の経緯をみると長期的に認められている漸減傾向が継続している。ダイオキシン類対策が進んだ中で、母乳中のダイオキシン類濃度が今後さらに低下するかどうか引き続き調査を継続する必要がある。2013年度から2024年度までの本研究班での調査した中で、児の発育発達について十分なデータが得られた228名を対象として、母乳中のダイオキシン類による影響について、濃度と児の身体発育や発達との関連を検討したが、今回の検討では明らかな関連は見いだせず、令和3年度の報告(出生時頭囲とダイオキシン類濃度との負の相関)と異なる結果だった。このような経緯からも今後も引き続き調査を継続して、ダイオキシン類濃度と身体発育や生後発達の間に本当に関連がないのか確認する必要がある。

研究協力者

埼玉県立小児医療センター病院長
　岡　明
医療法人成和会山口病院院長
　山口　暁

A. 研究目的

乳児にとって母乳栄養は最適な栄養法であり、厚生労働省では長年にわたり行政として母乳栄養を推進してきている。母乳は栄養価や移行免疫の点で優れている上に、授乳による育児中の

母親および児への心理面での効果も高いことなどがあげられている。厚生労働省では「授乳・離乳の支援ガイド」を作成し、2019 年にさらに改訂して、母乳育児が安心して行える環境作りを推進している。

一方で、母乳は母体が摂取した環境からの影響を間接的に受けるため、母体への環境汚染が母乳を介して児に影響する可能性がある。特に脂溶性物質は母体内に蓄積しやすく、脂肪である母乳内に分泌される可能性がある。したがってダイオキシン類のような人体への有害性が知られている脂溶性物質については母乳を介した汚染に対する特別な注意が必要である。ベトナムの汚染地域でのコホート調査では、周産期のダイオキシン類汚染が、その後の言語発達などの影響があることが示されており、乳児期のダイオキシン曝露には特別な注意が必要である。

ダイオキシン類は環境中で安定であり、人体で代謝されにくいことから、長期間母体内の脂肪組織に蓄積されることが知られている。これまでの厚生労働科学研究での母乳中のダイオキシン類汚染についての調査結果より母体内に妊娠までに蓄積されたダイオキシン類は、特に第一子の授乳の際の母乳中に高濃度に分泌されることが明らかになっており、第二子以降は有意に低濃度となることが示されている。ある意味では母体にとって出産までに蓄積したダイオキシン類の排出経路の一つとなっている。

また、第一子の母乳中のダイオキシン類分泌量が長期間におよぶ母体中のダイオキシン類の蓄積量を反映すると仮定すると、妊娠までの母体の長期のダイオキシン類汚染状況を反映するものであり、環境汚染の評価という観点からは、人体が長期間生活していた中で摂取したダイオキシン類の総量を評価する指標ともいうことができる。

本研究班による母乳中のダイオキシン類濃度の測定は、1997 年(平成 9 年)より厚生省科学研究事業(主任研究者多田裕東邦大学名誉教授)として開始され、すでに 25 年間継続して母乳でのダイオキシン類濃度のデータを蓄積してきている。また、それ以前から凍結保存されていた母乳でのダイオキシン類測定を含めると 1973 年(昭和 48 年)から 49 年間に渡るデータを得ている。こうした研究により安全性を検証するとともに、環境中ダイオキシン類による母体の汚染の動向をモニターすることが可能になっている。

昨年度までの研究結果では、母乳中のダイオキシン類の汚染は 1970 年代などに比して格段に改善傾向になり、現在も漸減傾向にあることが示されており、これはダイオキシン類対策として 1999 年(平成 11 年)に成立したダイオキシン類対策特別措置法の効果が明確に出てきているものと考えられる。ただし、完全母乳栄養の児についての母乳から摂取されるダイオキシン類の量を計算すると、1 か月時にはダイオキシン類対策特別措置法にて規定されている耐用一日摂取量(TDI)の 10 倍程度のダイオキシン類を現在でも摂取していることが明らかになっている。胎児や乳幼児などは特にダイオキシン類による影響を受けやすいことが WHO でも指摘されており、母乳栄養を推進する上でもダイオキシン類汚染のレベルはいまだに無視できない問題である。こうした点から、乳児への主要な食品である母乳中のダイオキシン類濃度を継続して測定することは社会的にも重要であると考えられる。

本研究では、こうした観点から継続的に母乳中のダイオキシン類濃度を継続して測定している。そして、単に母乳のダイオキシン類汚染の現状を評価するだけでなく、乳児期のダイオキシン類汚染の影響について、身体面の発育と、精神面での発達の両面から影響評価を行なってきている。

このように本研究は、母乳育児を推進する立場で、母乳中のダイオキシン類濃度を測定し、さらにその乳児についてコホートとして発達や発育状況の調査を行い、科学的にその安全性を検証することを目的としている。

B. 研究方法

(1) 初産婦より、産後 1 か月の母乳の提供を受けダイオキシン類濃度を測定する。生後 1 か月と採取条件を一定とし、経年的な母乳汚染の変化を判断できるように計画している。母乳中ダイオキシン類レベルは、初産婦と経産婦でその分布が異なるため、本研究では原則として初産婦に限定している。母乳採取の際には、同時に母親の年齢、喫煙歴や児の出生時の体格、1 か月時の発育状況などの調査用紙への記入を求めた。本年度は、医療法人成和会山口病院にて計 20 人から参加同意を得、そのうち 19 名から母乳の提供を受けた。

(2) ダイオキシン類として、PCDDs7 種類、PCDFs10 種類、Co-PCBs12 種類と、母乳中の脂肪含有量を公益財団法人北九州生活科学センターに委託して測定した。ダイオキシン類濃度の毒性等価量は、2005 年の WHO の毒性等価係数を用いた。脂肪 1g 当たりの毒性等価量(脂肪重量換算)を pg-TEQ/g-fat として表記した。PCDDs(7 種) + PCDFs(10 種) + Co-PCBs(12 種)をダイオキシン類濃度と定義した。母乳中のダイオキシン類は同一施設の高分解能 GC/MS で測定し、脂肪 1g 当たりの毒性等価量で示した。実測濃度が定量下限値未満のダイオキシン類は定量下限値の 1/2 の濃度として計算した。

(3) 1 歳時に郵送にて質問紙票を送付して下記の点について郵送にて回答を依頼した。

・これまでにかかった病気

・1 歳までの発育・発達

運動発達(出来るようになった月例)

首のすわり、寝返り、お座り、つかまり立ち、伝い歩き、一人歩き(2～3 歩)

精神発達(出来るようになった月例)

禁止の理解:「いけません」というと、ちょっと手を引っ込める。

動作の理解:「バイバイ」や「さよなら」に反応する。

指示の理解:「おいで」「ちょうだい」「ねんね」などを 1 つだけでも理解できる。

発語:食物のことを「マンマ」という(他の有意義語でも良い)。

動作模倣:ブラシ、鉛筆などを使うまねをする。

(4) 母乳中ダイオキシン類濃度と発育発達への影響については、出生時(生下時)の体重、頭囲、1 歳時の身体発育、運動発達、精神発達との関係について、Pearson の相関係数、重回帰分析を行った。統計ソフトは R (R 4.2.2)を使用した。

(倫理面への配慮)調査研究は東京大学医学部附属病院、埼玉県立小児医療センター、医療法人成和会山口病院の倫理委員会の承認を得て実施した。調査時には、研究の目的や方法について文書で説明の上で、書面にて承諾を得た。解析については、個人情報を除いて匿名化したデータベースを用いて解析した。

C. 研究結果

(1)初産婦の出産 1 か月後の母乳中のダイオキシン類濃度:ダイオキシン類として PCDDs 7 種類、PCDFs 10 種類、Co-PCBs 12 種類について測定をした(表1)。2005 年の WHO の毒性等価係数による総ダイオキシン類濃度は、5.039 ± 1.737pg-TEQ/g-fat(平均±標準偏差)、中央値が 4.611、範囲が 3.002～8.785 であった。

(2)経年的な母乳中のダイオキシン類濃度の変化:厚生労働科学研究として Co-PCBs12 種類を含めて測定を開始した 1998 年度からの傾向として、2013 年度までは漸減傾向が認められ、その後 2017 年度までは横ばいを示したが、2018 年度以降は漸減傾向が認められた(表 2、図 1)。2021 年度以降は再度横ばいの傾向に転じたかに見えたが、本年度は 4 つの指標(PCDDs、PCDFs、Co-PCBs、及び Total)すべてにおいて最低値を示した。

(3)母乳中ダイオキシン類濃度と発育発達への影響:2013 年度から 2024 年度までの本研究班での調査した中で、児の発育発達について十分なデータが得られた 228 名を対象として、母乳中

ダイオキシン類濃度と、出生時体重、出生時頭囲、母体年齢、母体喫煙、および発達に関する項目を獲得した月齢(禁止の理解、バイバイの理解、指示理解、発語、動作模倣、首の座り、寝返り、座位、つかまり立ち、伝い歩き)の Pearson の相関係数(両側)を評価した(表3)が、5%以下の有意な相関を示した項目は母体年齢(正の相関)のみだった。2021 年度の報告で、ダイオキシン類濃度と出生時の頭囲が単回帰分析・重回帰分析ともに負の相関を示していたため、改めて 2021 年度の報告に用いたものと同じモデルで重回帰分析を行ったところ(表 4)、児の性別・在胎期間・母体年齢とは有意な相関と同程度の効果量を認めたが、今回の解析ではダイオキシン類濃度と出生時頭囲との間に有意な相関は認めなかった。

D. 考察

今年度も引き続き乳児へのダイオキシン類汚染の原因として重要な初産婦の母乳中のダイオキシン類濃度の測定を行なった。時期を揃える必要がある理由として、母乳は、出産後の時期によって母乳内の脂肪成分などの組成も変化し、脂肪中に含まれるダイオキシン類量についても影響を受ける可能性があり、出産後 1 か月時に測定時期を揃えて測定を行った。

全体の毒性等価量の傾向としては、1997 年度の調査開始以来、長期的に漸減傾向を示していた。2024 年度の平均値ではこれまでの測定の中も最も低い 5.039pg-TEQ/g fat であった(表2)。環境中のダイオキシン類汚染が改善しており、2013 年から 2017 年にかけてはすでに基本的に下げ止まってプラトーに達している可能性も考えられるが、2018 年以降、漸減傾向と判断された。今後母乳中に排泄されるダイオキシン類量がさらに漸減するかどうかは今後の傾向を見る必要がある。

母乳中のダイオキシン類による影響について、濃度と児の身体発育や発達との関連を検討した。母乳中のダイオキシン類濃度は、母体に蓄積されたダイオキシン類が母乳中に分泌されることを反映し、母体年齢に相関が認められ、2021 年度の報告と同様の結果であり再現性が確認された。一方で、ダイオキシン類濃度と児の身体発育や生後の発達については、明らかな相関を認めた項目はなかった。出生時頭囲を目的変数、ダイオキシン類濃度を説明変数、児の性別・在胎期間・母体年齢・母体喫煙を調整変数とする重回帰分析では、出生時頭囲とダイオキシン類濃度との関連は認めなかったものの、児の性別・在胎期間・母体年齢とは有意な相関と同程度の効果量を認め、説明変数以外の調整変数との関連に関しては同様の結果で再現性が確認され、モデルの一部妥当性を確認した。2021 年度との結果の乖離に関しては、症例数が増えたことが影響した可能性があるが、本当にダイオキシン類濃度が児の身体発育に影響ないかは更に症例数を蓄積して再評価を行う必要があると考える。

E. 結論

2024年度に提供を受けた初産婦の母乳中のダイオキシン類濃度は、昨年と同様に低値を示した。母乳中のダイオキシン類濃度は、調査開始時からの長期間的に見ると漸減傾向が続いている。今後母乳中に排泄されるダイオキシン類量がさらに漸減するかどうかは今後の傾向を見る必要がある。現在の母乳中のダイオキシン類の濃度レベルでは、生後の児の発育発達への明らかな影響は認められなかった。

F.研究業績

1. 論文発表
   なし

2. 学会発表
   なし

表1　母乳中ダイオキシン類濃度（2024 年度）

ダイオキシン類 (pg-TEQ/g-fat)	平均	標準偏差	中央値	最大	最小
PCDDs-TEQ	2.157	0.629	2.020	4.038	1.494
PCDFs-TEQ	1.006	0.384	0.961	2.184	0.517
PCDDs/PCDFs-TEQ	3.163	0.994	3.010	6.222	2.051
Non-ortho PCBs-TEQ	1.749	0.860	1.520	3.773	0.755
Mono-ortho PCBs-TEQ	0.126	0.066	0.111	0.292	0.053
Coplanar PCBs-TEQ	1.876	0.921	1.632	4.064	0.813
Total-TEQ	5.039	1.737	4.611	8.785	3.002

表 2　2013 年度から 2024 年度の母乳中のダイオキシン類濃度の動向（初産婦の産後 1 か月の母乳中のダイオキシン類濃度の平均値を WHO2005 年の毒性等価係数を用いて毒性等価量を計算。単位　pg-TEQ/g-fat）

年度	2013 年度	2014 年度	2015 年度	2016 年度	2017 年度	2018 年度	2019 年度	2020 年度	2021 年度	2022 年度	2023 年度	2024 年度
PCDDs-TEQ	3.00	3.06	4.45	3.40	3.85	3.49	2.74	3.05	2.34	2.37	2.53	2.16
PCDFs-TEQ	1.86	2.18	2.09	1.63	1.93	1.77	1.48	1.43	1.10	1.16	1.26	1.01
Coplanar PCBs-TEQ	2.43	2.98	3.24	2.96	3.48	2.84	2.65	2.63	2.15	2.12	2.16	1.88
Total	7.30	8.22	9.78	8.00	9.27	8.10	6.87	7.11	5.60	5.65	5.95	5.04

図 1　1998 年度から 2024 年度の母乳中のダイオキシン類濃度の年度別変化

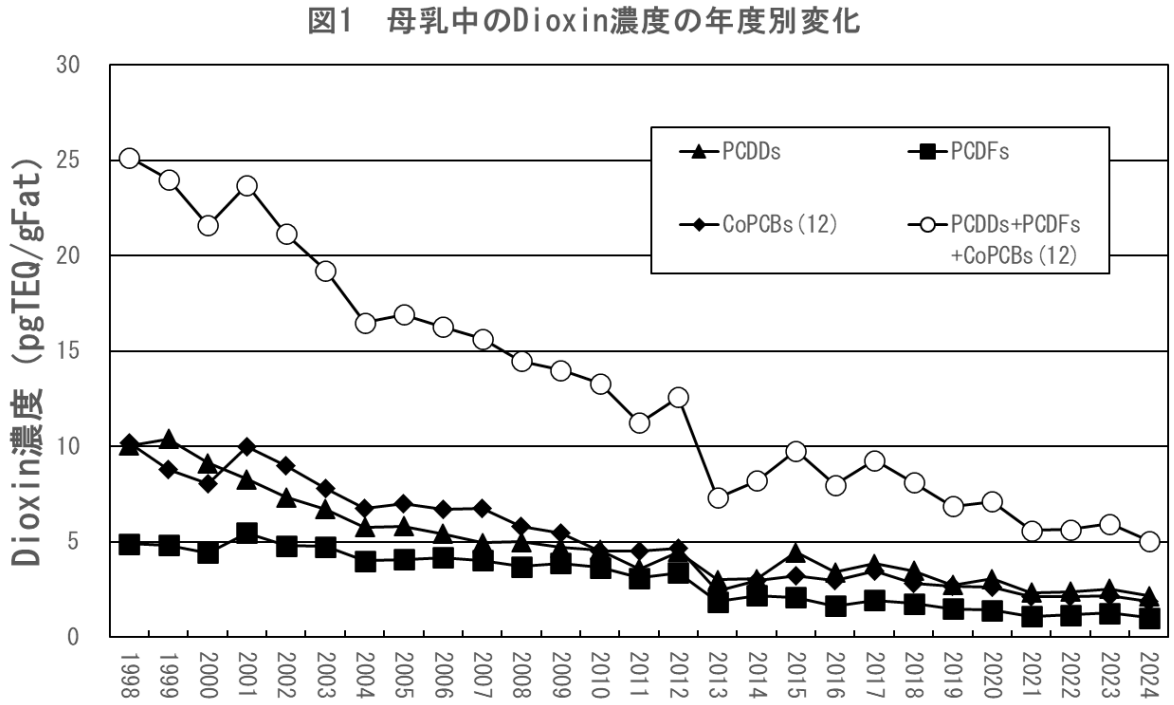


表3 Pearson の相関係数(両側)

		PCDDs + PCDFs + CoPCB(12)	出生時体重	出生時頭囲	母年齢	母喫煙歴	指示理解(禁止)	バイバイ	指示理解(おいで)	発語(マンマ)	動作模倣	頚定	寝返り	座位	掴り立ち	伝い歩き
PCDDs + PCDFs + CoPCB(12)	相関係数	1.000	-0.068	-0.005	0.464	-0.022	0.043	0.046	0.074	-0.011	0.039	-0.102	0.042	-0.071	-0.062	-0.086
	有意確率		0.309	0.945	**0.000**	0.737	0.596	0.570	0.357	0.893	0.627	0.206	0.606	0.379	0.446	0.302
	度数	228	228	228	228	228	157	157	157	157	156	156	156	156	152	146
出生時体重	相関係数		1.000	0.580	-0.092	-0.038	0.054	-0.062	-0.049	-0.070	-0.083	-0.177	-0.100	-0.177	-0.006	0.047
	有意確率			**0.000**	0.165	0.569	0.499	0.443	0.544	0.386	0.303	**0.027**	0.214	**0.027**	0.940	0.577
	度数		228	228	228	228	157	157	157	157	156	156	156	156	152	146
出生時頭囲	相関係数			1.000	0.086	-0.044	-0.001	-0.017	-0.016	-0.054	-0.042	-0.089	0.042	-0.056	0.117	0.137
	有意確率				0.197	0.510	0.992	0.832	0.845	0.501	0.600	0.270	0.602	0.485	0.151	0.098
	度数			228	228	228	157	157	157	157	156	156	156	156	152	146
母年齢	相関係数				1.000	0.007	-0.090	-0.040	0.080	0.107	-0.084	0.004	0.136	0.039	0.087	0.090
	有意確率					0.919	0.261	0.615	0.316	0.183	0.295	0.961	0.092	0.631	0.289	0.279
	度数				228	228	157	157	157	157	156	156	156	156	152	146
母喫煙歴	相関係数					1.000	-0.130	0.055	0.023	0.130	0.074	0.109	-0.025	0.068	-0.068	-0.073
	有意確率						0.106	0.493	0.771	0.105	0.355	0.175	0.761	0.402	0.407	0.384
	度数					228	157	157	157	157	156	156	156	156	152	146
指示理解(禁止)	相関係数						1.000	-0.050	-0.036	-0.050	0.101	0.002	0.015	0.052	0.124	0.204
	有意確率							0.532	0.650	0.531	0.209	0.979	0.851	0.520	0.129	**0.014**
	度数						157	157	157	157	156	156	156	156	152	146
バイバイ	相関係数							1.000	0.283	0.129	0.192	-0.002	0.065	0.103	-0.080	-0.028
	有意確率								**0.000**	0.108	**0.016**	0.978	0.418	0.201	0.325	0.739
	度数							157	157	157	156	156	156	156	152	146
指示理解(おいで)	相関係数								1.000	0.208	0.199	0.209	0.199	0.251	0.220	0.191
	有意確率									**0.009**	**0.013**	**0.009**	**0.013**	**0.002**	**0.006**	**0.021**
	度数								157	157	156	156	156	156	152	146
発語(マンマ)	相関係数									1.000	0.248	-0.036	0.162	-0.015	0.070	0.062
	有意確率										**0.002**	0.651	0.043	0.852	0.394	0.459
	度数									157	156	156	156	156	152	146
動作模倣	相関係数										1.000	0.088	0.086	0.052	0.034	-0.026
	有意確率											0.278	0.286	0.518	0.682	0.754
	度数										156	155	155	155	151	145
頚定	相関係数											1.000	0.187	0.369	0.278	0.240
	有意確率												**0.019**	**0.000**	**0.001**	**0.004**
	度数											156	156	156	152	146
寝返り	相関係数												1.000	0.269	0.485	0.416
	有意確率													**0.001**	**0.000**	**0.000**
	度数												156	156	152	146
座位	相関係数													1.000	0.374	0.324
	有意確率														**0.000**	**0.000**
	度数													156	152	146
掴り立ち	相関係数														1.000	0.883
	有意確率															**0.000**
	度数														152	146
伝い歩き	相関係数															1.000
	有意確率															
	度数															146

表 4 出生時頭囲 重回帰分析

モデル	非標準化係数		標準化係数	t 値	有意確率
	平均	95%信頼区間			
(定数)	24.833	(19.323, 30.344)		8.881	
性別(女児)	-0.742	(-1.118, -0.365)	-0.253	-3.884	0.000
在胎期間(日数)	0.031	(0.011, 0.050)	0.205	3.124	0.002
母体年齢	0.044	(0.002, 0.086)	0.150	2.065	0.040
母体喫煙	-0.230	(-0.696, 0.236)	-0.079	-0.974	0.331
母乳中ダイオキシン類濃度	-0.027	(-0.090, 0.036)	-0.061	-0.846	0.399

Ⅱ．分担研究報告書

(5)国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害物質の調査に関する研究

研究分担者　登田　美桜

令和6年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

(5)国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害物質の調査に関する研究

研究分担者　登田　美桜　国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

研究要旨

食品中にはしばしば環境や食品そのものに由来する有害化学物質が含まれるが、その実態やリスクの大きさについては必ずしも十分な情報があるわけではない。国民の健康保護のためには食品の安全性確保は重要課題であるが、全てのリスクを知ることや全てに対応することは不可能である。そこでリスクの大きさに基づいた、リスク管理の優先順位付けが必要になる。本課題では世界の食品安全担当機関が評価している各種汚染物質の暴露マージン（MOE）についての情報を継続的に収集している。今年度は欧州食品安全機関（EFSA）による各種有機ヒ素化合物、臭素化フェノール、ポリ塩化ナフタレン類、英国毒性委員会（COT）による鉛の評価等を参考にした。また近年世界中でパーおよびポリフルオロアルキル化合物（PFAS）についての評価や対策にいくつか重要な進展があり、その状況をまとめた。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

井上依子、畝山智香子

A. 研究目的

国民の健康保護ための施策策定には、懸念される有害物質のリスク情報が必要となる。食品には意図的・非意図的に無数の化合物が含まれ、そのリスクの程度も多様なので、リスク管理の優先順位づけのために目安となる情報が必要になる。意図的に使用されるもの（食品添加物や残留農薬）についてはほとんどの国で許認可制をとっており、安全性に関する情報を吟味してリスクが管理されている一方、非意図的に食品に含まれる汚染物質については情報が少なく、リスクの高いものもある可能性がある。そこでリスクの大きさに基づいた、リスク管理の優先順位付けの参考として、世界の食品安全担当機関が評価している各種汚染物質の暴露マージン（MOE）についての情報を継続的に収集している。また近年世界中で話題になっているパーおよびポリフルオロアルキル化合物（PFAS）について、国際機関及び各国の食品安全関連機関に関する動向を調査することとした。

B. 研究方法

世界各国の食品安全担当機関やリスク評価担当機関による発表を収集した。学術発表やメディア報道に対応して何らかの発表を行っている場合にはもとになった文献や報道についても可能であれば情報収集した。MOE については評価書から抜き出した数値を表にまとめた。PFAS については時系列を年表にした。なお収集期間は前回報告の 2024 年 4 月以降 2025 年 2 月までで

ある。

C. 研究結果及び考察

1. 暴露マージン(MOE)の情報収集

世界各国リスク評価担当機関等が発表したMOE について、今年度の更新分を表 1(非がん影響)及び表 2(遺伝毒性)に示した。新たに報告されたのは、非がん影響については欧州食品安全機関(EFSA)による各種有機ヒ素化合物、臭素化フェノール、ポリ塩化ナフタレン類、英国毒性委員会(COT)による鉛の評価、一方、遺伝毒性(安全な量が設定できない)影響についてはEFSA による有機ヒ素化合物の一種であるジメチルアルシン酸(DMA(V))であった。

現在EFSAは、欧州委員会(EC)からの依頼により、ヒ素化合物に関する一連のリスク評価を実施中で、これまで無機ヒ素化合物(2024 年 1 月)、低分子有機ヒ素化合物(2024 年 7 月)、複雑な有機ヒ素化合物(2024 年 12 月)に関する科学的意見を発表しており、それらの評価結果をもとに今後、無機ヒ素と有機ヒ素の複合ばく露に関するリスク評価も予定している。無機ヒ素については、昨年度の分担研究報告書に記した通り、健康影響の指標である基準点(reference point)を $BMDL_{01}$(2009 年)0.3〜8 μg/kg 体重/日(範囲)から、疫学研究を根拠にした $BMDL_{05}$ 0.06 μg iAs/kg 体重/日へと大幅に引き下げた。それにともない、MOE はさらに小さい値となり安全上の懸念があると結論された。EFSA は 2009 年の評価において有機ヒ素化合物も対象にしていたが、当時はデータ不足のため有機ヒ素化合物のリスクについては評価できなかった。今回 EFSA は、低分子有機ヒ素化合物についてはモノメチルアルソン酸(MMA(V))とジメチルアルシン酸(DMA(V))を対象に、また複雑な有機ヒ素化合物についてはアルセノベタイン、アルセノ糖、アルセノ脂質を対象に評価を実施している。それらの評価において健康への懸念があると結論されたのは、DMA(V)のみである。EFSA は、DMA(V)には遺伝毒性と発がん性がありそうだと判断し、健康影響への懸念を生じるか否かの判断の規準となる MOE を 10,000 とした。リスク評価の結果、EU 諸国における DMA(V)への推定暴露量をもとに算出した MOE が 10,000 を下回ったことから、EFSA は食品に含まれる DMA(V)への暴露はヒトの健康への懸念を生じると結論しており、ばく露源としてはコメ及びコメ製品と魚による寄与度が高かったと報告している。ただし、リスクの大きさについては、DMA(V)の MOE は無機ヒ素の MOE(成人平均:0.4-2、成人 95th:0.2-0.9)に比べると大幅に大きいことから、リスクの大きさは無機ヒ素よりも遙かに小さいと言える。主要ばく露源は無機ヒ素と同じくコメ及びコメ製品であったことから、ヒ素化合物へのばく露によるリスクを総合的に考えると、コメ及びコメ製品を介したばく露については無機ヒ素のリスクに有機ヒ素のリスクが上乗せされる可能性がある。そのため、EFSA が複合ばく露によるリスクをどのように評価するのか注意しておく必要がある。さらに、2025 年 10 月に開催予定の第 101 回 FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA)においてヒ素(無機、有機)がリスク評価の対象となっていることから、その評価の動向も注視しておくべきであろう。

英国 COT の評価では、妊娠可能年齢(16〜49 歳)の女性における鉛の非がん影響の MOE を算出した。最も影響を受けやすい子供の知能発達の低下という有害影響をエンドポイントにした $BMDL_{01}$ 0.5 μg/kg 体重/日を基準点として、全てのばく露源(食品、飲料水、土壌/粉塵)からの複合ばく露による MOE は 0.9〜2 と非常に小さい値が算出された。しかし COT は、利用した BMDL が乳児及び小児のばく露に関する複数のコホート研究における小さな影響(IQ の 1 ポイントの違い)を根拠にしているため保守的である可能性が高いことから、IQ の違いによる臨床的に有意な影響について明らかなリスクがないことを保証するには 10 以上の MOE で十分であると結論づけた。さらに、MOE が 1 よりも大きい場合にはリスクはあったとしても小さく、大幅に 1 よりも小さい場合に科学的な不確実性により重大なリスク

を排除出来ない可能性があるとした。そのため、今回の COT の評価による鉛ばく露の MOE は非常に小さいが、最終的には、リスクは低い可能性が高く、現状では英国の大多数の女性と胎児の健康にとっていかなる懸念もありそうにないと結論された。MOE の大きさは、リスクを比較する際の有益な指標であるが、リスクの懸念を判断する際の MOE の指標値（一般的には、遺伝毒性のある場合は 10,000、非遺伝毒性の場合は 100）は評価の際の専門家の判断によるため、ときどき今回の COT の鉛評価のように特殊な場合がある。そのため、特に MOE が小さい場合には、評価時のリスクキャラクタリゼーションで MOE とリスクの大きさの指標についてどのように判断されたのかを確認することも重要となるだろう。

鉛に関わる諸外国の注目すべき動向として、米国食品医薬局（FDA）が赤ちゃん及び小さい子供向け加工食品について鉛のアクションレベルを最終決定したことにも留意しておきたい。アクションレベルが記されたガイダンスの原案が 2023 年 2 月に公表され、パブリックコメントを経た後に、2025 年 1 月に最終版が公表された。最終的なアクションレベルは下記の通りである。これらアクションレベルは、鉛の濃度を下げる措置を講じた場合の達成可能性が約 90-95 パーセンタイルとなる範囲（つまり、約 5-10%が違反になり得る）で設定されている。

- 果物、野菜（根菜類の単一食材の製品を除く）、混合品（穀類と肉を主原料とする混合品を含む）、ヨーグルト、カスタード/プリン、単一食材の肉類：10 ppb
- 根菜類（単一食材）：20 ppb
- 乾燥乳児用シリアル：20 ppb

2. PFAS 関連の情報収集

PFAS に関する国内外の動向を資料の年表（表 3）にまとめた。この 1 年で特筆すべきことは、国内では内閣府食品安全委員会による健康影響評価の結果の最終通知（2024 年 6 月）、環境省の中央環境審議会水環境・土壌農薬部会水道水質・衛生管理小委員会における水質管理目標設定項目（PFOS と PFOA の合算値として 50 ng/L）から水質基準項目への変更方針案の了承（2025 年 2 月）、消費者庁食品衛生基準審議会食品規格・乳肉水産・伝達性海綿状脳症対策部会におけるミネラルウォーター類中の PFOS 及び PFOA の規格基準設定の方針案の了承がある。食品衛生法のもとミネラルウォーター類の成分規格は、殺菌・除菌有と殺菌・除菌無の製品に区別して設定されている。今回の規格基準の方針検討では、殺菌・除菌無のミネラルウォーターについては原水の採水の段階から厳格に管理されていることを踏まえて、対象を殺菌・除菌有のミネラルウォーター類のみとし、水質基準案に準じて PFOS 及び PFOA の合算値として 50 ng/L が提案されている。

海外では、2024 年 4 月に米国環境保護局（EPA）により PFAS 第一種飲料水規制最終規則が発表された（表 4）。EPA が設定した法的拘束力のある飲料水中の最大汚染レベル（Maximum Contaminant Levels）は非常に低い値が採用されているが、これらは測定の定量限界に基づいている。経過措置期間として、3 年間の初期モニタリング期間が提供されており、5 年後（2029 年）からは完全施行となる。定量限界を採用したほぼゼロリスクを目指す規制であり、実行可能性に疑問が残ることから、完全施行となった後の動向が気になるところである。またカナダ保健省も 2024 年 8 月にカナダ飲料水水質ガイドラインを最終化し、25 種類の PFAS の合算として目標値 30 ng/L を設定した。飲料水に含まれる PFAS については、2022 年に世界保健機関（WHO）が飲料水水質ガイドラインのバックグラウンド文書において暫定ガイドライン値（pGV）として、PFOS 及び PFAS に対してそれぞれ個別の pGV 0.1 µg/L、総 PFAS に対して 0.5 µg/L を提案していた。しかし、その後のパブリックコメントを受けて 2023 年 11 月に PFAS のレビューを継続することを発表し、現在は WHO のウェブサイト上からこれら暫定ガイドライン値が消されている状態である。そのた

め、WHO による飲料水中の PFAS のガイドライン値の設定については先が見通せず、いずれの国も、今後の WHO の検討次第で改めて検討が必要になる可能性がある。

その他、2024 年 10 月、ストックホルム条約残留性有機汚染物質検討委員会第 20 回会合（POPRC20）において、長鎖ペルフルオロカルボン酸（LC-PFCA：炭素数 9～21）とその塩及び LC-PFCA 関連物質について特定の免除を付した上でストックホルム条約の附属書 A（廃絶対象物質：製造・使用、輸出入の原則禁止）に掲載することを検討するよう、第 12 回ストックホルム条約締約国会議（COP12）へ勧告することが決定している。

EU では、2024 年 9 月に REACH 規則のもと、ウンデカフルオロヘキサン酸（PFHxA）及びその関連物質の使用を制限する委員会規則（EU）2024/2462 が採択された。REACH 規制では、別途特別な規制で管理されている食品と農薬以外の用途ほぼ全てが対象となり、食品接触物質も含まれている。食品接触物質に関する規則(EC) No 1935/2004 の適用範囲に含まれる紙およびボール紙については、均質材料で測定して PFHxA 及びその塩類の合計が 25 ppb 以上、PFHxA 関連物質の合計が 1000 ppb 以上の濃度での上市及び使用が制限対象となり、発効日から 24 カ月間の経過措置期間が設けられ、2026 年 10 月 10 日から適用される予定である。さらに EU では、2023 年 1 月に欧州 5 ヵ国（デンマーク、ドイツ、オランダ、ノルウェー、スウェーデン）から、REACH 規則のもと、PFAS に分類される全ての化合物の製造・上市・使用を制限する規制案が欧州化学品庁（ECHA）へ提出されており、2025 年に欧州委員会による採択を目指して着々と議論が進められている。PFAS の規制は広く産業分野全体に関わるため、食品に限らず PFAS の法的定義や規制方針について EU 以外に世界中で議論が継続しており、今後も注視していく必要があるだろう。

最後に、食品に含まれる PFAS について JECFA が 2027 年にリスク評価の実施を予定している。その評価を受けて、国際規格を策定するコーデックス委員会や世界各国の食品安全担当機関において JECFA の結論に応じた食品の安全性確保のための取組が検討されることになると予想されることから、特にフォローしておく必要がある。

D. 結論

今年度の注目すべきリスク評価の一つとして、EFSA が低分子の有機ヒ素化合物であるジメチルアルシン酸（DMA(V)）について遺伝毒性と発がん性がありそうだと判断し、MOE が 10,000 を下回ったことから、食品に含まれる DMA(V)への暴露はヒトの健康への懸念を生じると結論した。ただし、無機ヒ素の MOE に比べると大幅に大きいことから、リスクの大きさでは無機ヒ素よりも遙かに小さいと考えられた。2025 年 10 月に開催される第 101 回 JECFA においてもヒ素（無機、有機）に関するリスク評価の実施が予定されており、その評価の動向を注視すべきであろう。

一方 PFAS については、我が国で水道水及びミネラルウォーター類（殺菌・除菌有）における規制について具体的な方針が示されたことが今年度の重要事項であった。現在、WHO が飲料水水質ガイドラインに関わる PFAS のレビューを継続しており、また 2027 年に JECFA がリスク評価の実施を予定している。PFAS に関するリスク評価や規制制度は今後も国際的にさまざまな変化や更新が行われることが見込まれることから、それらの動向のフォローアップが必要である。

E.研究業績

1. 論文発表

1) 登田美桜. 諸外国の新規食品制度について. ファルマシア, 60(10), 926-930 (2024).
2) 登田美桜, 市川範夫, 井上依子, 河恵子, 春田一絵, 與那覇ひとみ, 畝山智香子.「食品安全情報（化学物質）」のトピックスについて－令和5年度（2023）. 国立医薬品食品衛

生研究所報告, 142, 54-62 (2024).

2. 学会発表

なし

表 1 MOE 更新 2024 非がん影響

物質	MOE	条件	機関、年度	POD
モノメチルアルソン酸（MMA(V)）#1	78,000-1,617,000	魚の身 乳児平均最大－最小	EFSA, 2024-1	雄ラットの体重減少に基づく $BMDL_{10}$ 18.2 mg MMA(V)/kg bw/day (9.7 mg As/kg bw per day に相当)
MMA(V)	126,000-1,617,000	魚の身 幼児平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	147,000-1,213,000	魚の身 その他子ども平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	269,000-2,425,000	魚の身 青少年平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	237,000-3,233,000	魚の身 成人平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	202,000-2,425,000	魚の身 高齢者平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	404,000-1,213,000	魚の身 超高齢者平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	220,000-882,000	魚の身 妊娠女性平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	511,000-571,000	魚の身 授乳中女性平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	28,000-746,000	魚の身 乳児 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上

MMA(V)	41,000-511,000	魚の身 幼児 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	73,000-422,000	魚の身 その他子ども 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	108,000-882,000	魚の身 青少年 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	118,000-970,000	魚の身 成人 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	99,000-808,000	魚の身 高齢者 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	139,000-422,000	魚の身 超高齢者 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	147,000-313,000	魚の身 妊娠女性 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	211,000-211,000	魚の身 授乳中女性 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	539,000-1,617,000	軟体動物 幼児平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	113,000-1,386,000	軟体動物 その他子ども平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	128,000-3,233,000	軟体動物 青少年平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	137,000-4,850,000	軟体動物	EFSA, 2024-1	同上

		成人平均最大－最小		
MMA(V)	110,000-4,850,000	軟体動物 高齢者平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	117,000-1,940,000	軟体動物 超高齢者平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	3,233,000-9,700,000	軟体動物 妊娠女性平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	606,000-882,000	軟体動物 その他子ども 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	52,000-808,000	軟体動物 青少年 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	220,000-220,000	加工/保存された魚 乳児平均最大－最小	EFSA, 2024-1	雄ラットの体重減少に基づく BMDL10 18.2 mg/kg bw/day
MMA(V)	95,000-3,233,000	加工/保存された魚 幼児平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	211,000-3,233,000	加工/保存された魚 その他子ども平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	277,000-4,850,000	加工/保存された魚 青少年平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	152,000-9,700,000	加工/保存された魚 成人平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	99,000-4,850,000	加工/保存された魚 高齢者平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上

MMA(V)	58,000-4,850,000	加工/保存された魚 超高齢者平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	94,000-4,850,000	加工/保存された魚 妊娠女性平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	206,000-206,000	加工/保存された魚 授乳中女性平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	66,000-66,000	加工/保存された魚 乳児 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	83,000-83,000	加工/保存された魚 幼児 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	211,000-1,617,000	加工/保存された魚 その他子ども 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	808,000-882,000	加工/保存された魚 青少年 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	41,000-67,000	加工/保存された魚 成人 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
MMA(V)	28,000-69,000	加工/保存された魚 高齢者 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
アルセノベタイン (AsB)	> 340	魚、魚介類、魚由来の加工食品 幼児 95th 最大（P95 暴露推定の最大値）	EFSA, 2024-2	ラット生殖試験で検査された最高用量の NOAEL 4.2 mg As/kg bw per day（有害影響なし）
AsB	> 31,000	魚、魚介類、魚由来の加工食品 幼児 95th 最大（P95 暴露推定の	EFSA, 2024-2	マウス短期免疫毒性試験で検査された最大用量の NOAEL 387 mg As /kg bw

		最大値）		per day（有害影響なし）
Glycerol arsenosugar (AsSugOH) #2	1,197	海苔 成人 95th（P95 暴露推定の最大値）	EFSA, 2024-2	マウスの認知機能と運動機能に基づく $BMDL_{10}$ 0.85 mg As/kg bw per day
2,4,6-トリブロモフェノール (2,4,6-TBP) #3	145,000-22,000,000	95th UB 最大- LB 最大	EFSA, 2024-3	ラットの腎乳頭壊死に基づく $BMDL_{10}$ 353 mg/kg bw per day
Hexachloronaphthalenes（hexaCNs）#4	2,400,000-18,000,000	混合シナリオ A 乳児 95th 最大－最小	EFSA, 2024-4	ラットの血小板の減少に基づく $BMDL_{20}$ 0.05 mg/kg bw per day
hexaCNs	1,700,000-13,000,000	混合シナリオ A 幼児 95th 最大－最小	EFSA, 2024-4	同上
hexaCNs	2,000,000-23,000,000	混合シナリオ A その他子ども 95th 最大－最小	EFSA, 2024-4	同上
hexaCNs	3,600,000-42,000,000	混合シナリオ A 青少年 95th 最大－最小	EFSA, 2024-4	同上
hexaCNs	5,800,000-44,000,000	混合シナリオ A 成人 95th 最大－最小	EFSA, 2024-4	同上
hexaCNs	7,100,000-55,000,000	混合シナリオ A 高齢者 95th 最大－最小	EFSA, 2024-4	同上
hexaCNs	6,000,000-46,000,000	混合シナリオ A 超高齢者 95th 最大－最小	EFSA, 2024-4	同上
hexaCNs	89,000-230,000	混合シナリオ 母乳を摂取する乳児 95th 最大－最小	EFSA, 2024-4	同上

Lead #5	4.2	妊娠可能年齢の女性（16-49 才）平均 UB	COT, 2024-1	乳幼児対象の複数コーホート試験から 1 ポイントの IQ 低下に基づく $BMDL_{10}$ 12μg/L (0.5 μg/kg bw per day に相当)
Lead	2.2	妊娠可能年齢の女性（16-49 才）97.5th UB	COT, 2024-1	同上
Lead	2	妊娠可能年齢の女性（16-49 才）平均（食品、飲料水、土壌/粉塵）	COT, 2024-1	同上
Lead	0.9	妊娠可能年齢の女性（16-49 才）97.5th（食品及び飲料水）、75th（土壌/粉塵）	COT, 2024-1	同上
テトラメチルビスフェノール F ジグリシジルエーテル (TMBPF-DGE) #6	At least 67,000	（特定されていない）	COT, 2024-2	28 日間毒性試験 NOAEL 100 mg/kg bw per day

#1 MOE 指標値：500

#2 MOE 指標値：1,000

#3 MOE 指標値：6,000

#4 MOE 指標値：2,000

#5 EFSA の指標は 10、1 以上 10 未満の場合は「リスクは低い可能性が高い（ただし全く懸念がないとしても無視はできない）」、COT の指標は＞1 で「リスクはあったとしても小さい」、＜1 で「必ずしも懸念があるとは言えないが、科学的な不確実性から重大なリスクを否定できない」

#6 MOE 指標値：1,000

注）混合シナリオ：全ての hexaCNs(PCN-63, PCN-64/68, PCN-65, PCN-66/67, PCN-69, PCN-70 and PCN-71/72) 及び PCN-73 の合計（シナリオ A は、卵サンプルにおける高濃度の PCN-69（313 ng/kg）を含む）

出典:

EFSA, 2024-1 https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/8844

EFSA, 2024-2 https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/9112

EFSA, 2024-3 https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/9034

EFSA, 2024-4 https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/8640

COT, 2024-1 https://cot.food.gov.uk/sites/default/files/2024-10/Lead%20in%20the%20maternal%20diet_Statement_FINAL%20Acc%20V%20SO%20Updated%20Oct%202024.pdf

COT, 2024-2 https://cot.food.gov.uk/sites/default/files/2024-09/Assessment%20of%20TMBPF-DGE%20RESERVED_August%202024_For%20publication.pdf

表 2 MOE 更新 2024　遺伝毒性

物質	MOE	条件	機関、年度	POD
ジメチルアルシン酸（DMA(V)）#1	8,100-33,300	乳児平均最大－最小	EFSA, 2024-1	雄ラットの膀胱腫瘍誘発に基づく $BMDL_{10}$ 1.1 mg DMA(V)/kg bw per day (0.6 mg As/kg bw per day に相当)
DMA(V)	3,800-31,600	幼児平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	6,100-50,000	その他子ども平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	11,100-85,700	青少年平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	13,600-120,000	成人平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	13,600-150,000	高齢者平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	15,400-85,700	超高齢者平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	13,000-150,000	妊娠女性平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	19,400-54,500	授乳中女性平均最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	1,900-8,700	乳児 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	1,300-9,000	幼児 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	1,900-10,300	その他子ども 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	3,800-20,700	青少年 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	4,400-28,600	成人 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	4,000-35,300	高齢者 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	5,800-23,100	超高齢者 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	5,000-33,300	妊娠女性 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	7,700-14,300	授乳中女性 95th 最大－最小	EFSA, 2024-1	同上

DMA(V)	1,250	コメ由来乳児用調製乳 乳児（摂取量平均x最大濃度）	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	3,200	コメ由来乳児用調製乳 乳児（摂取量平均x平均濃度）	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	970	コメ由来乳児用調製乳 乳児（P95 摂取量x最大濃度）	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	2,400	コメ由来乳児用調製乳 乳児（P95 摂取量x平均濃度）	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	7,700-200,000	コメ 平均最大-最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	3,200-75,000	コメ 95th 最大-最小	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	2,900-100,000	魚 平均最小-最大	EFSA, 2024-1	同上
DMA(V)	1,200-33,300	魚 95th 最大-最小	EFSA, 2024-1	同上

#1：MOE 指標値：10,000

出典：

EFSA, 2024-1 https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/8844

表 3 PFAS 年表 2024

年	米国	欧州	その他	日本	注
2024.03.20	FDA、PFAS を含む化学汚染物質を含有する食品の輸入警告（Import Alert）を発表				https://www.fda.gov/food/cfsan-constituent-updates/fda-issues-import-alert-food-products-chemical-contaminants-including-pfas
2024.04.10	EPA、PFAS 第一種飲料水規制最終規則を発表				https://www.epa.gov/sdwa/and-polyfluoroalkyl-substances-pfas
2024.04.18	FDA、PFAS について更新。最新の TDS データから、健康上の懸念は示唆されないと結論				https://www.fda.gov/food/hfp-constituent-updates/april-2024-update-pfas
2024.04.19	EPA、PFOA 及び PFOS を包括的環境対処・補償・責任法（CERCLA）の有害物質に指定．汚染調査や浄化の費用は汚染者に課せられることに				https://www.epa.gov/newsreleases/biden-harris-administration-finalizes-critical-rule-clean-pfas-contamination-protect
2024.06.25				食品安全委員会、PFAS 食品健康影響評価の結果を最終通知	https://www.fsc.go.jp/osirase/pfas_health_assessment.html
2024.07.10		ドイツ BfR、食品中の最大基準値（ML）を遵守するために、様々な家畜の完全飼料に含まれる PFAS の ML を設定			https://www.bfr.bund.de/cm/349/feed-is-key-to-compliance-with-maximum-pfas-levels-in-food-of-animal-origin.pdf

2024.07.17			環境省、第 4 回 PFOS・PFOA に係る水質の目標値等の専門家会議	以下、https://www.env.go.jp/water/pfas/pfospfoa.html
2024.08.01			環境省、第 5 回 PFAS に対する総合戦略検討専門家会議	https://www.env.go.jp/water/pfas/pfas.html
2024.08.02	BfR、イノシシの肝臓に含まれる PFAS に関する健康リスク評価を実施			https://www.bfr.bund.de/cm/349/the-consumption-of-wild-boar-liver-contributes-to-a-high-intake-of-pfas.pdf
2024.08.07		カナダ保健省、カナダ飲料水水質ガイドラインを最終化し、目標値 30 ng/L(25 種類の PFAS の合計)を設定		https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/objective-drinking-water-quality-per-polyfluoroalkyl-substances.html
2024.09.19	欧州委員会、REACH 規則のもと、PFHxA 及びその関連物質の使用を制限する委員会規則(EU)2024/2462 を採択			https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2024/2462/oj/eng
2024.09.23-27		第 20 回ストックホルム条約残留性有機汚染物質検討委員会が、長鎖ペルフルオロカルボン酸とその塩及び LC-PFCA 関連物質について特定の免除を付した		https://chm.pops.int/TheConvention/POPsReviewCommittee/Meetings/POPRC20/Overview/tabid/9850/Default.aspx

		上でストックホルム条約の附属書 A に掲載することを検討するよう、第 12 回ストックホルム条約締約国会議（COP12）へ勧告		
2024.11.15	EPA、PFAS 戦略的ロードマップ 2021-2024 の 3 年目進捗報告書を発表			https://www.epa.gov/pfas/pfas-strategic-roadmap-epas-commitments-action-2021-2024
2024.12.04	EPA、新規化学物質のレビューに関する規制を改訂し、新規 PFAS の適用除外を廃止			https://www.epa.gov/newsreleases/epa-reforms-new-chemicals-review-process-better-protect-public-health-promote
2024.12.19	EPA、水域の PFAS 濃度に関する健康に基づく国家環境水質基準勧告案を発表			https://www.epa.gov/newsreleases/epa-releases-draft-health-based-recommendations-pfas-levels-bodies-water
2024.12.24			環境省、第 5 回 PFOS・PFOA に係る水質の目標値等の専門家会議：PFOS 及び PFOA について「水質基準」に引き上げる方針を決定	https://www.env.go.jp/water/pfas/pfospfoa_00005.html

2025.01.03	FDA、PFAS に関連する 35 件の食品接触物質の市販前通知の無効を発表		https://www.fda.gov/food/hfp-constituent-updates/fda-determines-authorization-35-food-contact-notifications-related-pfas-are-no-longer-effective
2025.01.13	EPA、PFHxS 及び関連する塩類の IRIS 評価を発表、慢性及び亜慢性 RfD（4×10^{-10} mg/kg 体重/日）を導出		https://iris.epa.gov/document/&deid=363894
2025.02.06		環境省の中央環境審議会水環境・土壌農薬部会水道水質・衛生管理小委員会において、水質管理目標設定項目から水質基準項目への変更方針案を了承	https://www.env.go.jp/council/49wat-doj/page_00086.html
2025.02.10		消費者庁食品衛生基準審議会食品規格・乳肉水産・伝達性海綿状脳症対策部会においてミネラルウォーター類中の PFOS 及び PFOA の規格基準設定の方針案を了承	https://www.caa.go.jp/policies/council/fssc/meeting_materials/review_meeting_006/041076.html

表 4 米国 EPA の PFAS 第一種飲料水規制最終規則（概要）

化合物	MCLG*	MCL**
PFOA	ゼロ	4.0 ppt（又は 4.0 ng/L）
PFOS	ゼロ	4.0 ppt
PFHxS	10 ppt	10 ppt
PFNA	10 ppt	10 ppt
HFPO-DA（GenX 化合物）	10 ppt	10 ppt
PFHxS 、PFNA 、HFPO-DA、PFBS のうち 2 種以上の混合物	1.0（単位なし） ハザード指数	1.0（単位なし） ハザード指数

*最大汚染レベル目標（Maximum Contaminant Level Goals）：法的拘束力のない、健康影響に基づく飲料水中の汚染の目標レベル

**最大汚染レベル（Maximum Contaminant Levels）：法的拘束力のある、飲料水中に許容される汚染の最大レベル

さらに、最終規則では公共水道システムに以下を義務づけている。

- 公共水道システムは、これらの PFAS を監視しなければならず、初期の監視を完了するのに 3 年（2027 年まで）が与えられ、その後は継続的にコンプライアンス監視を行わなければならない。また 2027 年から、飲料水中のこれらの PFAS のレベルに関する情報を市民に提供しなければならない。
- モニタリングの結果、飲料水濃度がこれらの MCL を超えた場合、公共水道システムはこれらの PFAS を低減する解決策の実施に 5 年間（2029 年まで）が与えられる。
- 5 年後（2029 年）からは、飲料水中の PFAS が 1 つ以上の MCL に違反した場合、PFAS の低減措置を講じなければならず、違反の通知を市民に提供しなければならない。

連邦官報：PFAS National Primary Drinking Water Regulation
40 CFR Parts 141 and 142；[EPA-HQ-OW-2022-0114; FRL 8543-02-OW]
https://www.federalregister.gov/documents/2024/04/26/2024-07773/pfas-national-primary-drinking-water-regulation

参考資料：Final PFAS National Primary Drinking Water Regulation
https://www.epa.gov/sdwa/and-polyfluoroalkyl-substances-pfas

Ⅱ．分担研究報告書

(6)原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究

(6-1)ラットを用いたプベルル酸等の毒性試験

研究分担者　平林　容子

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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 その手法開発のための研究

分担研究報告書

(6)原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究 (6-1)ラットを用いたプベルル酸等の毒性試験

研究分担者　平林容子　国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター

研究要旨

紅麹菌を用いて製造されたいわゆる健康食品による腎障害等の健康被害を起こした事例について、その原因物質および発生機序の解明を目的に、原因物質の一つとされるプベルル酸及び新たに構造解析された２化合物を用いてラットによる毒性試験を実施した。プベルル酸については28日間反復経口投与した結果、腎臓と腺胃に毒性影響が確認された。腎臓では、尿糖増加やクレアチニン値の上昇、組織の壊死や炎症が確認され、一部では線維化に移行する可能性も示唆された。一方、腺胃の変化は回復性を示した。この結果から、本試験条件下におけるラットに対するプベルル酸の無毒性量は1 mg/kg/日と判断された。新たに特定された化合物Y及びZについては、7日間反復経口投与試験を実施したが、これらの化合物による毒性影響は認められなかった。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

出水 庸介、豊田 武士、杉山 圭一、花尻（木倉）瑠理

A. 研究目的

紅麹菌を用いて製造されたいわゆる健康食品によって腎障害等の健康被害が生じた事例について、紅麹菌を用いて製造されたいわゆる健康食品全体に対する不安が募っており、一刻も早い原因物質の特定、発生機序の解明が求められている。また、原因物質の一つとされるプベルル酸及び新たに構造解析された２化合物に関する毒性研究を早期に行うことが求められている。

B. 研究方法

1. ラットを用いたプベルル酸の 28 日間反復経口投与毒性試験

紅麹に由来するいわゆる健康食品による健康被害の原因究明を目的とし、プベルル酸（Puberulic acid; CAS no. 99-23-0）の毒性影響について検討した。6 週齢の雌雄 Crl:CD(SD)ラットに、0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したプベルル酸（国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部にて合成; Lot no. 20240707、純度 98.5%）を、雄には 0, 1, 3 及

び 10 mg/kg、雌には 0, 0.3, 1 及び 3 mg/kg の用量で 28 日間強制経口投与した(各群 5 匹)。投与量は、先行して実施された 7 日間反復経口投与毒性試験の結果に基づいて設定した。対照群及び高用量群については、投与終了時剖検群（主群）に加え、14 日間の回復期間を置く群（回復群）を設定し、毒性影響の回復性を併せて検討した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、尿検査（新鮮尿）、血液学的検査、血清生化学検査、肉眼的病理学検査、器官重量測定及び腎臓を含む全身諸臓器の病理組織学的検査を実施した。

2. ラットを用いた化合物 Y 及び Z の 7 日間反復経口投与毒性試験

化合物 Y 及び Z（compound 2 and 1, respectively, in J Nat Med. 2024. 78:845-8. doi: 10.1007/s11418-024-01827-w.）の毒性影響について検討するため、6 週齢の雌雄 Crl:CD(SD)ラットに、コーン油に懸濁した化合物 Y（Axcelead Drug Discovery Partners; Lot no. N01414-28-001、純度 99%）及び Z（同; Lot no. N01414-24-001、純度 96.1%）をそれぞれ 0.17 mg/kg、0.25 mg/kg の用量で 7 日間強制経口投与した（各群 5 匹）。投与量は、健康被害の原因とされる当該健康食品の 1 日当たり摂取量の 100 倍をヒトが摂取した際の、化合物 Y 及び Z の推定摂取量として設定した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、尿検査（新鮮尿及び蓄尿）、血液学的検査、血清生化学検査、肉眼的病理学検査、器官重量測定及び腎臓を含む全身諸臓器の病理組織学的検査を実施した。

C. 研究結果及び考察

1. ラットを用いたプベルル酸の 28 日間反復経口投与毒性試験

プベルル酸を雌雄の SD ラットに 28 日間反復経口投与した結果、主群において腎臓及び腺胃に毒性影響が認められた。腎臓に対する毒性影響として、尿検査（新鮮尿）における尿糖の増加及び血清生化学検査におけるクレアチニンの高値が雄の 10 mg/kg 群に（Tables 1~2）、肉眼的病理学検査における腎臓の退色並びに病理組織学的検査における腎臓の近位尿細管の空胞化、壊死及び再生が雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群に認められ、さらに雄の 10 mg/kg 群では病理組織学的検査において間質の炎症細胞浸潤がみられた（Tables 3~4; Figure 1）。また腺胃に対する毒性影響として、病理組織学的検査における腺胃粘膜のアポトーシス及びび漫性過形成が雄の 3 及び 10 mg/kg 群並びに雌の 3 mg/kg 群に認められた（Tables 4; Figure 2）。以上の結果から、本試験条件下における、ラットに対するプベルル酸の無毒性量は雌雄ともに 1 mg/kg/day と判断した。

回復群では、雄の 10 mg/kg 群の 1 例の腎臓に肉眼的病理学検査において変色巣が認められ、病理組織学的検査においては限局性の間質の線維化、再生尿細管並びに腎乳頭における鉱質沈着及び集合管の拡張が認められた（Table 5）。同個体の腎臓の他の部位に異常は認められず、また同群の他の 4 例及び雌の 3 mg/kg 群の全例の腎臓にも異常は観察されなかった。主群における腎臓の病理所見は、雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群の全例に認められたことから、プベルル酸の腎毒性は回復性を有するものと総合的には判断されたものの、重篤な障害が生じた場合には線維化を含む慢性病変に移行する可能性も同時に示唆された。腺胃の変化は回復期間終了時には観察されず、回復性を示すと考えられた。

結果の詳細は、資料として添付した資料 1 を参照のこと。

2. ラットを用いた化合物 Y 及び Z の 7 日間反復経口投与毒性試験

化合物 Y 及び Z を雌雄の SD ラットに 7 日間反復経口投与した結果、一般状態、体重、摂餌量及び器官重量に被験物質投与による影響

は認められなかった。

尿検査（蓄尿）、血液学的検査及び血清生化学検査では、被験物質投与群において種々のパラメータの有意な変動が認められたが（Tables 6~8）、尿検査における電解質の変動については、血清中濃度及び腎臓の病理組織学的検査における変化を伴わないことから、毒性学的意義に乏しい偶発的な変動と判断した。血液学的検査における白血球系パラメータの変動については、病理組織学的検査において検索した全ての臓器に炎症性病変はみられず、リンパ系・造血器系器官においても関連する病理学的変化は認められないことから、毒性学的意義に乏しい偶発的な変動と判断した。また、血清生化学検査における複数のパラメータの変動についても、関連する病理組織学的変化を伴わないことから、毒性学的意義に乏しい偶発的な変動と判断した。

病理組織学的検査では、空腸、甲状腺及び下垂体における所見が対照群を含む各群に散発的に認められたが（Table 9）、いずれもラットに自然発生することが知られる変化であり、偶発的な所見と判断した。腎臓を含む他の臓器に、病理組織学的変化は認められなかった。

結果の詳細は、資料として添付した資料２を参照のこと。

D. 結論

１. ラットを用いたプベルル酸の 28 日間反復経口投与毒性試験

プベルル酸を雌雄 SD ラットに 28 日間反復経口投与した結果、腎臓及び腺胃に毒性影響が認められた。本試験条件下における、ラットに対するプベルル酸の無毒性量は雌雄ともに 1 mg/kg/day と判断された。

2. ラットを用いた化合物 Y 及び Z の 7 日間反復経口投与毒性試験

化合物 Y 及び Z を雌雄 SD ラットに 7 日間反復経口投与した結果、本試験条件下においては、いずれの検査項目にも被験物質投与による毒性影響は認められなかった。

E. 参考文献

該当無し

F.研究業績

1. 論文発表

1） Matsushita K, Tsuji G, Akane H, Ishii Y, Takasu S, Ogawa K, Ito T, Yokoo H, Sennari G, Iwatsuki M, Hirose T, Hanaki H, Demizu Y, Hirabayashi Y, Saito Y, Honma M, Toyoda T: A 28-day subacute toxicity study of puberulic acid in Crl:CD(SD) rats. J Toxicol Pathol, in press

2. 学会発表

1） 松下幸平, 辻厳一郎, 赤根弘敏, 石井雄二, 高須伸二, 小川久美子, 伊藤貴仁, 横尾英知, 出水庸介, 平林容子, 齋藤嘉朗, 本間正充, 豊田武士:プベルル酸のラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験. 第 52 回日本毒性学会学術年会(2025.7)

Table 1. Urinalysis data for male and female Crl:CD(SD) rats treated with puberulic acid

Dose (mg/kg/day)		0	1	3	10
Males					
No. of animals		5	5	5	5
Protein	-	0	0	0	0
	±	0	0	0	1
	1+	5	4	5	1
	2+	0	1	0	3
Glucose	-	5	5	5	4
	±	0	0	0	0
	1+	0	0	0	1
Occult blood	-	5	5	5	5
Ketone body	-	3	3	3	3
	±	2	1	1	1
	1+	0	1	1	1
Urobilinogen	0.1	5	4	5	3
	1+	0	1	0	2
Bilirubin	-	5	5	5	5
pH	7.5	0	0	0	1
	8.0	3	3	3	2
	8.5	2	2	2	2
Dose (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
Females					
No. of animals		5	5	5	5
Protein	-	0	2	2	2
	±	2	0	1	1
	1+	1	1	2	2
	2+	2	2	0	0
Glucose	-	5	5	5	5
Occult blood	-	5	5	5	5
Ketone body	-	3	3	5	5
	±	2	2	0	0
Urobilinogen	0.1	4	3	5	5
	1+	1	2	0	0
	2+	0	0	0	0
Bilirubin	-	5	5	5	5
pH	6.5	0	0	0	0
	7.0	0	0	0	0
	7.5	0	0	0	0
	8.0	2	2	2	4
	8.5	3	3	3	1

Values are number of animals.

Table 2. Serum biochemistry data for male and female Crl:CD(SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

Dose (mg/kg/day)		0	1	3	10
Males					
No. of animals		5	5	5	5
TP	(g/dL)	6.00 ± 0.27	5.76 ± 0.26	5.76 ± 0.18	5.88 ± 0.33
A/G		2.36 ± 0.30	2.56 ± 0.22	2.52 ± 0.24	2.50 ± 0.26
ALB	(g/dL)	4.20 ± 0.20	4.14 ± 0.13	4.12 ± 0.15	4.20 ± 0.21
T-BIL	(mg/dL)	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.00	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01
GLU	(mg/dL)	102.6 ± 10.1	116.4 ± 21.1	109.8 ± 20.1	103.8 ± 17.3
TG	(mg/dL)	47.2 ± 11.3	51.2 ± 18.3	75.6 ± 14.8*	57.6 ± 20.2
T-CHO	(mg/dL)	61.2 ± 7.6	57.6 ± 11.1	61.2 ± 6.1	64.4 ± 20.5
BUN	(mg/dL)	12.1 ± 0.7	12.1 ± 1.1	11.6 ± 1.4	12.9 ± 2.6
CRE	(mg/dL)	0.29 ± 0.02	0.31 ± 0.04	0.29 ± 0.03	0.39 ± 0.08**
Na	(mEQ/L)	143.0 ± 0.7	142.2 ± 1.1	141.4 ± 0.5*	141.4 ± 1.1*
Cl	(mEQ/L)	102.0 ± 2.0	103.8 ± 1.3	102.8 ± 1.3	103.4 ± 1.7
K	(mEQ/L)	4.94 ± 0.29	4.86 ± 0.27	4.96 ± 0.17	4.72 ± 0.24
Ca	(mg/dL)	10.26 ± 0.18	10.02 ± 0.30	10.12 ± 0.30	10.20 ± 0.40
IP	(mg/dL)	9.12 ± 0.68	8.24 ± 0.26*	8.12 ± 0.43*	9.04 ± 0.61
AST	(IU/L)	131.2 ± 17.7	114.6 ± 20.6	107.6 ± 14.5	110.0 ± 13.6
ALT	(IU/L)	34.4 ± 5.1	33.4 ± 6.8	33.0 ± 3.0	34.2 ± 3.6
ALP	(IU/L)	205.2 ± 58.9	215.6 ± 40.5	215.2 ± 54.7	244.4 ± 46.2
γ-GTP	(IU/L)	<3	<3	<3	<3
Dose (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
Females					
No. of animals		5	5	5	5
TP	(g/dL)	6.28 ± 0.41	6.16 ± 0.21	6.30 ± 0.37	6.40 ± 0.41
A/G		2.72 ± 0.35	3.28 ± 0.19*	2.68 ± 0.24	2.98 ± 0.28
ALB	(g/dL)	4.58 ± 0.18	4.72 ± 0.19	4.58 ± 0.33	4.78 ± 0.29
T-BIL	(mg/dL)	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.02	0.08 ± 0.02
GLU	(mg/dL)	90.4 ± 21.5	95.0 ± 18.4	91.4 ± 15.8	106.0 ± 18.3
TG	(mg/dL)	26.4 ± 19.1	31.0 ± 11.6	22.4 ± 10.5	35.8 ± 19.8
T-CHO	(mg/dL)	70.6 ± 2.7	84.0 ± 15.7	66.8 ± 8.9	73.0 ± 7.9
BUN	(mg/dL)	15.5 ± 2.3	14.7 ± 2.9	14.0 ± 1.6	15.8 ± 2.9
CRE	(mg/dL)	0.35 ± 0.05	0.34 ± 0.03	0.34 ± 0.01	0.43 ± 0.12
Na	(mEQ/L)	137.4 ± 0.9	138.6 ± 1.1	138.4 ± 1.1	138.6 ± 0.5
Cl	(mEQ/L)	101.6 ± 0.9	104.0 ± 0.7**	104.0 ± 1.2**	103.8 ± 1.3*
K	(mEQ/L)	4.60 ± 0.25	4.64 ± 0.26	4.62 ± 0.11	4.58 ± 0.27
Ca	(mg/dL)	10.02 ± 0.15	10.08 ± 0.13	10.02 ± 0.36	10.22 ± 0.25
IP	(mg/dL)	7.20 ± 0.73	7.00 ± 0.67	7.22 ± 0.04	7.38 ± 0.44
AST	(IU/L)	111.4 ± 7.2	103.6 ± 14.1	110.0 ± 12.0	99.0 ± 8.8
ALT	(IU/L)	24.8 ± 4.2	25.8 ± 3.7	26.8 ± 6.6	27.4 ± 5.3
ALP	(IU/L)	114.8 ± 31.5	135.0 ± 31.0	140.4 ± 28.0	120.2 ± 33.6
γ-GTP	(IU/L)	<3	<3	<3	<3

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the corresponding controls at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 3. Macroscopic findings for male and female Crl:CD(SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

		Dose (mg/kg/day)	0	1	3	10
Males		No. of animals	5	5	5	5
	Organs	Findings				
	Kidney	Discoloration, pale, bilateral	-	-	-	2
		Discolored foci, pale, unilateral	-	-	-	-
	Jejunum	Diverticulum	1	-	1	-
		Dose (mg/kg/day)	0	0.3	1	3
Females		No. of animals	5	5	5	5
	Organs	Findings				
	Kidney	Discoloration, pale, bilateral	-	-	-	1

Values are number of animals.

-: Not detected.

Table 4. Histopathological findings for male and female Crl:CD(SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

		Males				Females			
	Dose (mg/kg/day)	0	1	3	10	0	0.3	1	3
	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5
Organs	Findings								
Kidney	Vacuolation, tubule, proximal (±/+)	-	-	-	5** (3/2)	-	-	-	5** (4/1)
	Necrosis, tubule, proximal (±/+)	-	-	-	5** (3/2)	-	-	-	5** (4/1)
	Regeneration, tubule, proximal (+/++)	-	-	-	5** (3/2)	-	-	-	5** (4/1)
	Infiltration, interstitium (±)	-	-	-	1	-	-	-	-
Stomach	Apoptosis, mucosa, glandular stomach (±/+)	-	-	4* (3/1)	5** (2/3)	-	-	-	4* (3/1)
	Hyperplasia, diffuse, mucosa, glandular stomach (±)	-	-	1	4*	-	-	-	2
Jejunum	Diverticulum (P)	1	N	1[a]	-	-	N	N	-
Lung	Aggregation, machrophage, alveoli (±)	-	N	N	-	1	N	N	-
	Inflammation, focal (±)	1	N	N	2	1	N	N	-
Thyroid	Ectopic tissue, thymus (P)	2	N	N	2	1	N	N	-
	Ultimobranchial cyst (P)	3	N	N	2	2	N	N	2
Epididymis	Sperm granuloma (P)	-	N	N	1	N	N	N	N
Pituitary	Aberrant craniopharyngeal structures (P)	-	N	N	-	1	N	N	-
Eye	Retinal rosettes, unilateral (±)	1	N	N	-	-	N	N	-
Liver	Necrosis, hepatocytes, focal (±)	1	N	N	1	2	N	N	2

Values are number of animals.

-: Not detected, ±: Minimal, +: Mild, ++: Moderate, +++: Severe, P: Present, N: Not examined.

*, **: Significantly different from the corresponding controls at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

[a]: The jejunum of one animal in the male 3 mg/kg group was examined histopathologically since a diverticulum was detected at necropsy.

Table 5. Histopathological findings for male and female Crl:CD(SD) rats of the recovery group

		Males		Females	
	Dose (mg/kg/day)	0	10	0	3
	No. of animals	5	5	5	5
Organs	Findings				
Kidney	Fibrosis, interstitial, focal (++)	-	1	-	-
	Regeneration, tubule, proximal (±)	-	1	-	-
	Mineralization, renal papilla (±)	-	1	-	-
	Dilatation, collecting duct, renal papilla (±)	-	1	-	-

Values are number of animals.

-: Not detected, ±: Minimal, +: Mild, ++: Moderate, +++: Severe.

Table 6. Urinalysis data in cumulative urine for male and female Crl:CD(SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
Male				
	No. of animals examined	5	5	5
Volume	(mL)	3.58 ± 0.93	4.38 ± 1.55	6.30 ± 3.53
Specific gravity		1.09 ± 0.01	1.08 ± 0.01	1.07 ± 0.03
Na	(mEq/L)	327.8 ± 59.9	264.6 ± 59.1	190.6 ± 102.6*
	(mg/20h)	26.6 ± 4.3	25.5 ± 5.9	21.8 ± 6.2
K	(mEq/L)	536.0 ± 91.9	506.0 ± 102.5	374.4 ± 174.2
	(mg/20h)	71.9 ± 10.7	80.8 ± 17.4	73.5 ± 19.7
Cl	(mEq/L)	435.6 ± 68.5	375.6 ± 81.0	266.8 ± 145.9*
	(mg/20h)	54.3 ± 8.3	55.2 ± 9.4	48.3 ± 17.1
Female				
	No. of animals examined	5	5	5
Volume	(mL)	6.52 ± 3.44	3.34 ± 1.34	3.94 ± 0.81
Specific gravity		1.07 ± 0.02	1.09 ± 0.02	1.08 ± 0.02
Na	(mEq/L)	184.6 ± 67.8	225.4 ± 63.6	210.4 ± 54.0
	(mg/20h)	24.5 ± 4.2	15.9 ± 1.5**	18.6 ± 2.1*
K	(mEq/L)	324.5 ± 92.0	501.0 ± 99.7*	407.0 ± 102.3
	(mg/20h)	73.6 ± 20.4	60.4 ± 10.8	59.3 ± 7.8
Cl	(mEq/L)	242.0 ± 73.8	350.4 ± 94.0	291.2 ± 69.9
	(mg/20h)	50.2 ± 11.1	38.2 ± 3.2	39.5 ± 4.0

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 7. Hematology data for male and female Crl:CD(SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
Male				
No. of animals examined		5	5	5
WBC	($\times 10^3/\mu L$)	7.45 ± 1.07	6.24 ± 1.84	7.01 ± 1.59
RBC	($\times 10^6/\mu L$)	6.2 ± 0.2	6.1 ± 0.3	6.3 ± 0.2
HGB	(g/dL)	12.8 ± 0.4	12.9 ± 0.6	13.1 ± 0.3
HCT	(%)	38.8 ± 0.8	39.5 ± 1.9	40.0 ± 1.0
MCV	(fL)	62.4 ± 0.5	64.5 ± 3.0	63.4 ± 2.3
MCH	(pg)	20.6 ± 0.4	21.2 ± 1.1	20.7 ± 0.6
MCHC	(g/dL)	33.0 ± 0.4	32.8 ± 0.3	32.7 ± 0.5
PLT	($\times 10^3/\mu L$)	996 ± 36	925 ± 131	1075 ± 76
RET	(%)	8.8 ± 0.7	9.6 ± 1.4	9.8 ± 0.9
	($\times 10^3/\mu L$)	544 ± 34	585 ± 71	615 ± 42
Differential leukocyte counts				
Neutrophil	(%)	10.6 ± 3.2	11.8 ± 3.0	16.7 ± 4.4*
	($\times 10^3/\mu L$)	0.78 ± 0.20	0.74 ± 0.25	1.17 ± 0.47
Eosinophil	(%)	0.8 ± 0.3	1.1 ± 0.4	0.9 ± 0.3
	($\times 10^3/\mu L$)	0.06 ± 0.03	0.07 ± 0.03	0.06 ± 0.01
Basophil	(%)	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.3	0.3 ± 0.2
	($\times 10^3/\mu L$)	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
Lymphocyte	(%)	85.6 ± 3.7	82.7 ± 3.6	78.4 ± 5.3*
	($\times 10^3/\mu L$)	6.39 ± 1.06	5.16 ± 1.56	5.50 ± 1.31
Monocyte	(%)	2.6 ± 0.8	4.0 ± 0.7*	3.8 ± 1.0
	($\times 10^3/\mu L$)	0.19 ± 0.06	0.26 ± 0.10	0.27 ± 0.10
Female				
No. of animals examined		5	5	5
WBC	($\times 10^3/\mu L$)	5.60 ± 0.73	6.52 ± 2.03	8.13 ± 1.44**
RBC	($\times 10^6/\mu L$)	6.9 ± 0.4	6.6 ± 0.1	6.9 ± 0.2
HGB	(g/dL)	13.9 ± 0.9	13.4 ± 0.3	13.8 ± 0.1
HCT	(%)	41.6 ± 3.0	39.7 ± 1.2	41.3 ± 0.3
MCV	(fL)	59.9 ± 2.0	60.6 ± 2.5	60.3 ± 2.5
MCH	(pg)	20.1 ± 0.7	20.4 ± 0.6	20.2 ± 0.7
MCHC	(g/dL)	33.6 ± 0.5	33.7 ± 0.5	33.4 ± 0.4
PLT	($\times 10^3/\mu L$)	1030 ± 94	1088 ± 83	1063 ± 24
RET	(%)	4.4 ± 1.4	5.3 ± 0.7	4.6 ± 0.6
	($\times 10^3/\mu L$)	299 ± 78	350 ± 45	312 ± 38
Differential leukocyte counts				
Neutrophil	(%)	6.7 ± 1.5	8.5 ± 2.5	7.9 ± 1.7
	($\times 10^3/\mu L$)	0.38 ± 0.11	0.52 ± 0.10	0.65 ± 0.26
Eosinophil	(%)	1.6 ± 0.8	1.5 ± 0.7	1.5 ± 0.3
	($\times 10^3/\mu L$)	0.09 ± 0.05	0.09 ± 0.03	0.12 ± 0.02
Basophil	(%)	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
	($\times 10^3/\mu L$)	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01
Lymphocyte	(%)	89.1 ± 2.7	87.0 ± 3.7	86.6 ± 2.2
	($\times 10^3/\mu L$)	4.98 ± 0.60	5.72 ± 2.00	7.04 ± 1.25*
Monocyte	(%)	2.4 ± 1.0	2.9 ± 1.2	3.9 ± 1.9
	($\times 10^3/\mu L$)	0.13 ± 0.06	0.18 ± 0.06	0.30 ± 0.11*

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 8. Serum biochemistry data for male and female Crl:CD(SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
Male				
	No. of animals examined	5	5	5
TP	(g/dL)	5.30 ± 0.27	5.48 ± 0.28	5.48 ± 0.16
A/G		4.12 ± 0.62	4.02 ± 0.34	3.74 ± 0.21
ALB	(g/dL)	4.24 ± 0.17	4.38 ± 0.19	4.32 ± 0.08
T-BIL	(mg/dL)	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01
GLU	(mg/dL)	72.8 ± 11.5	66.6 ± 7.8	70.4 ± 19.8
TG	(mg/dL)	60.6 ± 24.1	52.4 ± 14.1	58.8 ± 19.0
T-CHO	(mg/dL)	85.8 ± 12.4	76.4 ± 18.4	76.0 ± 6.2
BUN	(mg/dL)	9.7 ± 1.5	10.2 ± 1.9	9.8 ± 1.5
CRE	(mg/dL)	0.23 ± 0.00	0.21 ± 0.01	0.22 ± 0.02
Na	(mEQ/L)	141.6 ± 1.1	140.8 ± 0.4	141.0 ± 1.2
Cl	(mEQ/L)	103.8 ± 0.8	103.0 ± 1.9	102.6 ± 1.3
K	(mEQ/L)	5.08 ± 0.28	5.00 ± 0.32	4.90 ± 0.23
Ca	(mg/dL)	10.16 ± 0.09	10.26 ± 0.27	10.42 ± 0.23*
IP	(mg/dL)	9.12 ± 0.15	9.30 ± 0.41	9.78 ± 0.33**
AST	(IU/L)	129.0 ± 10.9	131.0 ± 25.8	136.0 ± 10.1
ALT	(IU/L)	35.0 ± 4.7	39.0 ± 3.0	38.6 ± 2.1
ALP	(IU/L)	352.4 ± 24.0	343.2 ± 30.4	328.2 ± 53.4
γ-GTP	(IU/L)	<3	<3	<3
Female				
	No. of animals examined	5	5	5
TP	(g/dL)	5.48 ± 0.18	5.54 ± 0.19	5.48 ± 0.18
A/G		4.40 ± 0.56	4.46 ± 0.44	4.24 ± 0.50
ALB	(g/dL)	4.46 ± 0.23	4.52 ± 0.13	4.42 ± 0.08
T-BIL	(mg/dL)	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01
GLU	(mg/dL)	72.4 ± 6.2	78.8 ± 5.2	81.4 ± 4.0*
TG	(mg/dL)	31.2 ± 7.7	36.2 ± 11.7	22.6 ± 9.4
T-CHO	(mg/dL)	63.2 ± 4.4	73.4 ± 18.3	64.6 ± 5.9
BUN	(mg/dL)	12.1 ± 4.0	10.2 ± 1.6	11.8 ± 2.3
CRE	(mg/dL)	0.25 ± 0.02	0.27 ± 0.01	0.27 ± 0.03
Na	(mEQ/L)	138.8 ± 0.4	138.6 ± 0.5	139.4 ± 0.5
Cl	(mEQ/L)	103.2 ± 1.3	103.8 ± 0.8	105.0 ± 1.0*
K	(mEQ/L)	4.86 ± 0.11	4.78 ± 0.20	4.64 ± 0.17*
Ca	(mg/dL)	10.22 ± 0.35	10.22 ± 0.23	10.08 ± 0.22
IP	(mg/dL)	8.50 ± 0.66	8.42 ± 0.47	8.22 ± 0.80
AST	(IU/L)	121.6 ± 15.9	104.4 ± 19.5	120.0 ± 14.1
ALT	(IU/L)	33.8 ± 5.5	26.0 ± 5.8	31.2 ± 2.6
ALP	(IU/L)	192.0 ± 32.2	192.6 ± 47.8	232.8 ± 20.8*
γ-GTP	(IU/L)	<3	<3	<3

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 9. Histopathological findings for male and female Crl:CD(SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
Male	No. of animals examined	5	5	5
Organs	Findings			
Jejunum	No abnormalities detected	5	4	5
	Diverticulum (P)	-	1	-
Thyroid	No abnormalities detected	3	4	5
	Ectopic tissue, thymus (P)	1	1	-
	Ultimobranchial cyst (P)	1	-	-
Pituitary	No abnormalities detected	4	4	4
	Cyst (P)	1	-	-
	Aberrant craniopharyngeal structures (P)	-	1	1
Female	No. of animals examined	5	5	5
Organs	Findings			
Thyroid	No abnormalities detected	4	2	1
	Ectopic tissue, thymus (P)	1	-	1
	Ultimobranchial cyst (P)	-	3	3

Values are No. of animals.
P: Present

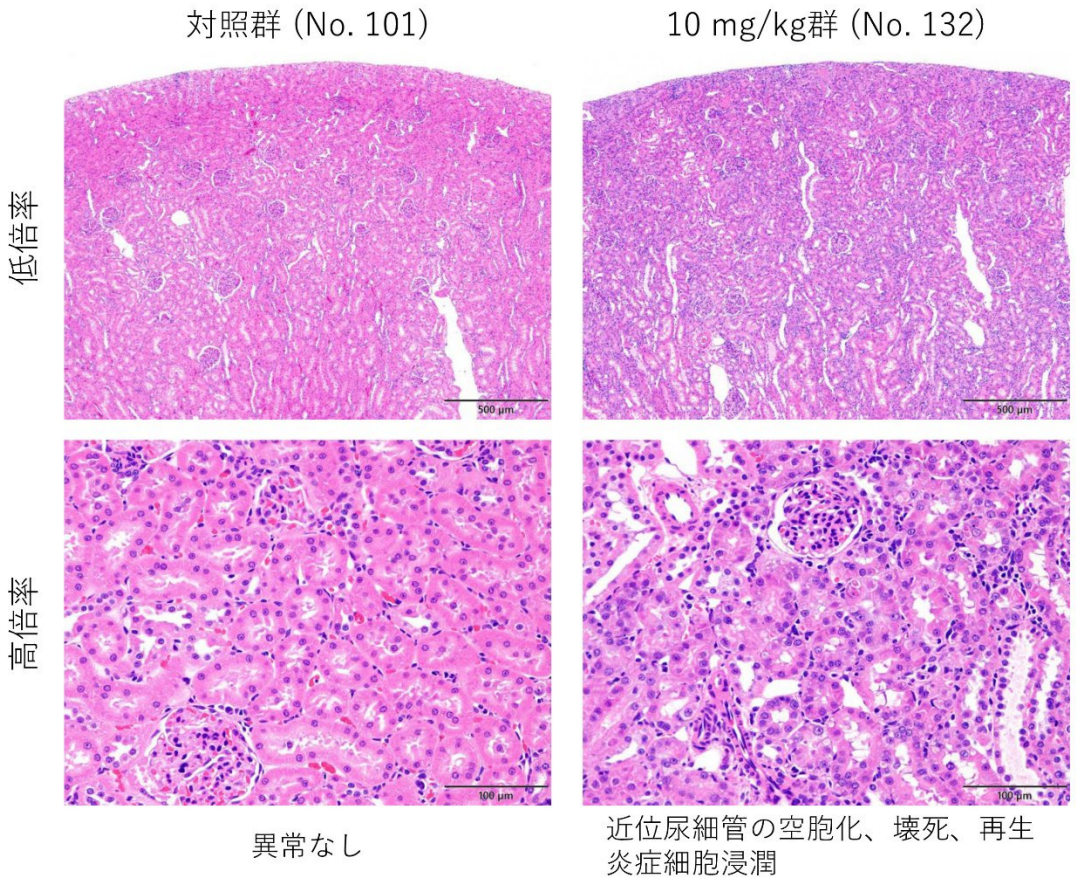


Figure 1. 対照群及びプベルル酸投与群の雄ラット腎臓における病理組織学的所見

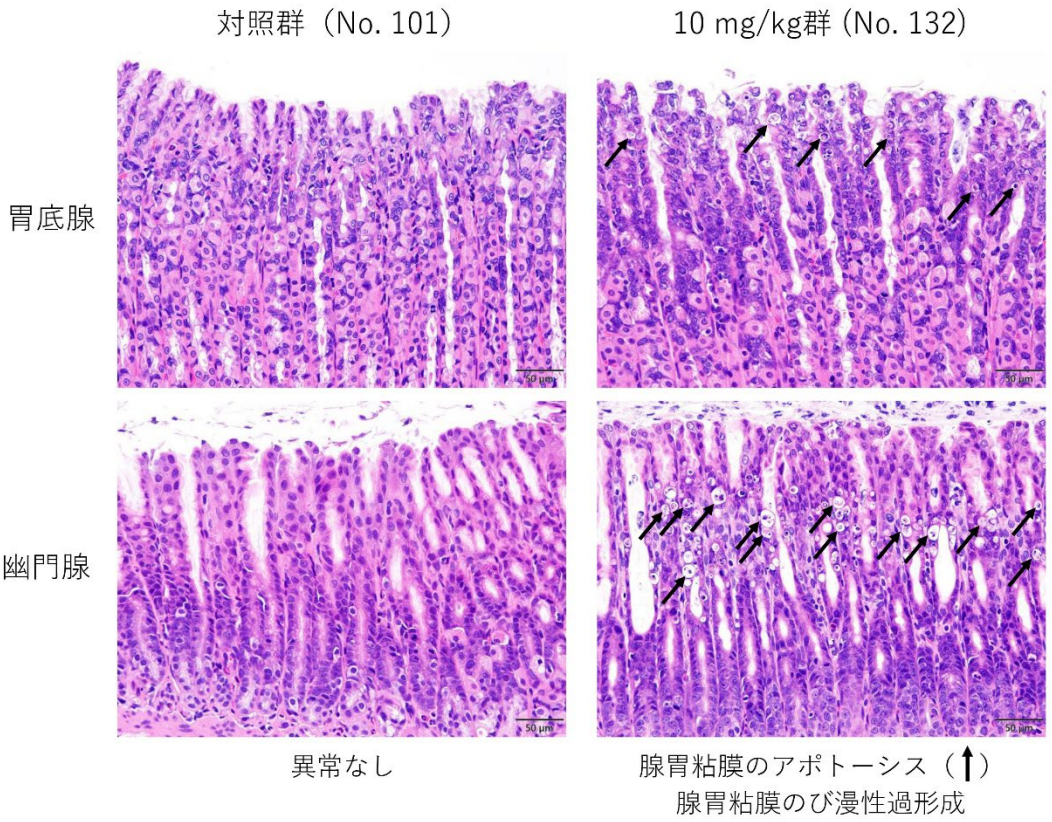


Figure 2. 対照群及びプベルル酸投与群の雄ラット腺胃における病理組織学的所見

資料1

ラットを用いたプベルル酸の 28 日間反復経口投与毒性試験

試験番号：24OM-1

令和 6 年 11 月 29 日

松下　幸平
石井　雄二
豊田　武士

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター　病理部

試験番号：24OM-1

要約

プベルル酸を各群 5 匹の 6 週齢 Crl:CD (SD)ラットに対して、0.5 w/v%メチルセルロース水溶液を溶媒として雄には 0, 1, 3 及び 10 mg/kg、雌には 0, 0.3, 1 及び 3 mg/kg の用量で 28 日間強制経口投与し、反復投与による毒性影響を検討した。また、雌雄の対照群及び高用量群については投与終了後 14 日間の回復期間後に剖検する群を設定し、毒性影響の回復性を併せて検討した。

その結果、プベルル酸の毒性影響は腎臓及び胃（腺胃）に認められた。腎臓に対する毒性影響として、尿検査における尿糖の増加及び血清生化学検査におけるクレアチニン（CRE）の高値が雄の 10 mg/kg 群に、肉眼的病理学検査における腎臓の退色並びに病理組織学的検査における腎臓の近位尿細管の空胞化、壊死及び再生が雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群に認められ、さらに雄の 10 mg/kg 群では病理組織学的検査において間質の炎症細胞浸潤がみられた。また胃に対する毒性影響として、病理組織学的検査における腺胃粘膜のアポトーシス及びび漫性過形成が雄の 3 及び 10 mg/kg 群並びに雌の 3 mg/kg 群に認められた。以上の結果から、本試験条件下におけるプベルル酸の無毒性量は雌雄ともに 1 mg/kg/day と判断した。

回復期間終了時では、雄の 10 mg/kg 群の 1 例の腎臓に肉眼的病理学検査において変色巣が認められ、病理組織学的検査においては限局性の間質の線維化、再生尿細管並びに腎乳頭における鉱質沈着及び集合管の拡張が認められた。同個体の腎臓の他の部位に異常は認められず、また同群の他の 4 例及び雌の 3 mg/kg 群の全例の腎臓にも異常は観察されなかった。投与期間終了時における病理組織学的検査では、腎臓の変化は雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群の全例に認められたことから、プベルル酸の腎毒性は回復性を有するものと総合的には判断されたものの、重篤な障害が生じた場合には線維化を含む慢性病変に移行する可能性も同時に示唆された。胃の変化は回復期間終了時には観察されず、回復性を示すと考えられた。

試験番号：24OM-1

1 試験概要

1.1 試験表題

ラットを用いたプベルル酸の 28 日間反復経口投与毒性試験

1.2 試験番号

24OM-1

1.3 試験目的

プベルル酸をラットに 28 日間強制経口投与し、反復投与による毒性を明らかにすることを目的とした。

1.4 ガイドライン

経済協力開発機構（Organisation for Economic Co-operation and Development: OECD）毒性試験ガイドライン「げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験（TG407）」に可能な限り準じて実施した。

1.5 動物愛護

本施設は一般財団法人日本医薬情報センターの評価を受け、厚生労働省の通知「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」（厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知　平成 27 年 2 月 20 日　科発 0220 第 1 号）に適合した施設であると認定されている。本試験は国立医薬品食品衛生研究所「動物実験等の適正な実施に関する規程」に従って計画し、同所の動物実験委員会による審査・承認を経て実施した。

1.6 試験実施施設

国立医薬品食品衛生研究所
〒210-9501　神奈川県川崎市川崎区殿町 3 丁目 25 番 26 号

1.7 試験管理責任者

国立医薬品食品衛生研究所　安全性生物試験研究センター　病理部　部長
豊田　武士

1.8 試験責任者

国立医薬品食品衛生研究所　安全性生物試験研究センター　病理部　第三室長
松下　幸平

試験番号：24OM-1

2　被験物質

名称	：プベルル酸
供給源	：国立医薬品食品衛生研究所　有機化学部
CAS No.	：99-23-0
性状	：粉末
ロット番号	：20240707
含量	：98.5%
保管条件	：冷暗所
取り扱い上の注意	：使用時には手袋、マスク及び保護メガネ等の適切な保護具を着用し、皮膚及び眼への接触を避けた。

3　媒体

名称	：0.5 w/v%メチルセルロース水溶液
製造元	：富士フイルム和光純薬株式会社
ロット番号	：KSR7024
保管条件	：冷暗所

4　試験系

4.1　動物

動物種	：ラット
系統	：Crl:CD (SD)（SPF 動物）
性	：雌雄
入荷時週齢	：5 週齢
投与開始時週齢	：6 週齢
購入（使用）匹数	：雌雄各 32 匹（30 匹）
供給源	：ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社
所在地	：〒243-0214　神奈川県厚木市下古沢 795
検疫・馴化期間	：1 週間
群分け後の余剰動物の処置	：余剰動物は試験系から除外した。

4.2　試験系選択理由

OECD 毒性試験ガイドライン「げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験（TG407）」に基づいて齧歯類の 1 種としてラットを選択した。本系統は、微生物学的に統御され、遺伝的に安定であることから決定した。

4.3　飼育条件

適切な生物学的防御がなされた環境の部屋で動物を飼育した。

飼育室	： 223
温度	： 23±1℃
相対湿度	： 50±5%
照明時間	： 12 時間／日（7:00~19:00）
換気回数	： 15 回／時間
飼育匹数	： 2～3 匹／ケージ
ケージ交換頻度	： 2 回以上／週
給水瓶交換頻度	： 2 回以上／週

4.4　収容ケージ及び床敷

ケージ	： プラスチック製ケージ（W258×D418×H186 mm）
ケージ蓋	： ステンレス製
床敷	： ソフトチップ（三協ラボサービス株式会社）

4.5　飼料及び給餌方法

飼料	： オリエンタル酵母工業株式会社製固形飼料（CRF-1）
給餌方法	： ケージ蓋に取り付けられている給餌器に入れて、自由摂取。

4.6　飲料水及び給水方法

飲料水	： 調製水
給水方法	： 透明な給水瓶を用いて自由摂取

4.7　群分け方法

群分け方法	： 群分け実施日の体重に基づき無作為に実施
群分け実施日	： 投与開始前日

4.8　個体識別法

ケージラベルに試験番号、性別、群名、ケージ番号、被験物質名及び投与濃度、動物番号、試験開始日、剖検日、試験責任者名を明記した。動物の個体識別は、油性インクによる尾部へのマーキングを用いて行った。

5　試験方法

5.1　投与期間及び投与方法

被験物質の投与は、毎日 1 回（週 7 日）、投与期間は 28 日間とした。被験物質投与液はディスポーザブルシリンジ及びプラスチック製ディスポーザブル経口ゾンデを用いて 5 mL/kg の容量で強制経口投与した。対照群には同様の方法で媒体を投与した。投与液量は直近の体重に基づいて個体別に算出した。投与液量がシリンジの目盛りの最大容量を超えないよう、適切な容量のシリ

ンジを選択した。実際の投与液量の有効数字は、使用するシリンジの最小目盛りを下回らないように設定した。被験物質の投与は原則として午前 8:00～12:00 に実施した。

5.2　投与量及び群構成

被験物質の投与量、投与液濃度並びに 1 群当たりの匹数及び動物番号は、下表の通りである。

投与量	投与液濃度	匹数（動物番号）	
（mg/kg/day）	（mg/mL）	雄	雌
0	0	10* (101~110)	10* (201~210)
0.3	0.06	-	5 (211~215)
1	0.2	5 (111~115)	5 (221~225)
3	0.6	5 (121~125)	10* (231~240)
10	2	10* (131~140)	-

*対照群及び高用量群の動物番号が後ろの各 5 匹を回復群とし、最終投与 15 日後に剖検

5.3　被験物質投与量の設定理由

雌雄 Crl:CD (SD)ラットに被験物質を 8.52 mg/kg の用量で 7 日間反復経口投与した毒性試験において、雄では体重に変化は認められなかったものの、病理組織学的検査において腎臓に被験物質の影響と考えられる変化が認められた。一方、雌においては体重減少が認められ、病理組織学的検査では腎臓において雄よりも強い変化がみられた。これらの結果に基づき、本試験における被験物質の投与用量は、雄では 10 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 3 で除した 3 mg/kg/day 及び 1 mg/kg/day を中用量及び低用量に設定し、雌では 3 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 3 で除した 1 mg/kg/day 及び 0.3 mg/kg/day を中用量及び低用量に設定した。

5.4　投与経路及び投与方法の選択理由

投与経路は、被験物質がヒトに曝露される可能性の最も大きい経路である経口投与とした。投与方法は、被験物質の安定性に関する情報が得られていないことから、用時調製による強制経口投与を選択した。

5.5　被験物質投与液の調製方法及び調製頻度

電子天秤を用いて被験物質を遠沈管に秤量し、媒体である 0.5 w/v%メチルセルロース水溶液を加えて超音波にて懸濁して 10 mg/kg 群用の溶液（2 mg/mL）を調製した。さらに同溶液を媒体によって段階的に希釈し、3、1 及び 0.3 mg/kg 群用の溶液（0.6、0.2 及び 0.06 mg/mL）を調製した。撹拌時は調製液を泡立たせないように注意した。安定性に関する情報が得られていないため、用時調製とした。

5.6　観察及び測定項目

投与開始日を投与 1 日（Day 1）と起算し、投与 1~7 日を投与 1 週、剖検日は投与 28 日の翌日（Day 29）及び 14 日間の回復期間後（最終投与の 15 日後）（Day 43）とした。

5.6.1 一般状態

被験物質投与期間中には 1 日 1 回以上、全ての動物について一般状態、生死について観察し、個体別に記録した。回復期間中の平日について同様に観察を行った。

5.6.2 体重

投与 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25 及び 28 日の投与前に測定した。回復期間中においては、36 及び 42 日に測定した。また、剖検日に各動物の 1 晩（約 16 時間）絶食後の体重（剖検日体重）を測定した。各時点において全ての動物を電子天秤に乗せ、個体別に体重を測定した。

5.6.3 摂餌量

投与期間中に給餌量を投与 1, 8, 15 及び 22 日に、残餌量を投与 8, 15, 22 及び 28 日に測定した。回復期間中には給餌量を 28 及び 36 日に、残餌量を 36 及び 42 日に測定した。各時点において各ケージの給餌量及び残餌量を電子天秤にて測定し、1 匹当たりの 1 日平均摂餌量を算出した。

5.6.4 尿検査

全例について剖検前 1 週（Day 23 及び 37）に以下の検査を実施した。

動物は検査当日、採尿ラックに移し蓄尿を開始した。蓄尿中は採尿ラック用の給水瓶及び給餌器を用いて 4.5 項及び 4.6 項に記載の飼料及び飲料水を投与した。採尿ラックへの移動は群単位で実施した。約 4 時間の蓄尿後、尿サンプル（新鮮尿）を回収し、下記項目について試験紙（オーションスティックス 7EA、アークレイ株式会社）及び自動尿分析装置（オーションイレブン AE-4021、アークレイ株式会社）を用いて検査を実施した。

検査項目：潜血、pH、ケトン体、尿糖、蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビン

5.6.5 血液学的検査

被験物質投与期間終了時及び回復期間終了時の全生存動物について検査を実施した。検査試料（血液）の採取は、採取前日の夕方から絶食（給水は継続）させた動物を、当日にイソフルラン麻酔下で開腹し、腹部大動脈から行った。動物の採血（屠殺）順は、群ごとに絶食時間が偏らないように設定した。

採取した血液の一部を抗凝固剤（EDTA-2K）入りの試験管（ベネジェクト II 真空採血管、テルモ株式会社）に移し、下記の項目について自動血球計算装置 IDEXX プロサイト Dx（アイデックスラボラトリーズ株式会社）を用いて測定した。再測定を実施した場合、再測定を実施した理由並びに採用、不採用としたデータ及びその理由を明確に記録した。最終的に残存した血液はゲノム安全科学部に譲渡した。

検査項目：赤血球数（RBC）、ヘモグロビン濃度（HGB）、ヘマトクリット値（HCT）、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球血色素濃度（MCHC）、血小板数（PLT）、白血球数（WBC）、網状赤血球数（RET）、白血球分画（好中球；Neutrophil、好酸球；Eosinophil、好塩基球；Basophil、単球；Monocyte、リンパ球；Lymphocyte）

5.6.6 血清生化学検査

被験物質投与期間終了時及び回復期間終了時の全生存動物について検査を実施した。前項で採取した血液の残りを血清分離剤（ポリエステルゲル）及び凝固促進用シリカ微粒子入りの試験管（BD バキュテイナ採血管、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）に分注し、遠心分離して血清を得た。血清は-20℃以下で保存した。測定はオリエンタル酵母工業株式会社に委託して実施した。測定項目は以下の通りである。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ（γ-GTP）、総ビリルビン（T-BIL）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（CRE）、ブドウ糖（GLU）、総コレステロール（T-CHO）、トリグリセリド（TG）、総蛋白（TP）、アルブミン（ALB）、A/G 比（A/G）、無機リン（IP）、カルシウム（Ca）、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、塩素（Cl）

5.6.7 病理学的検査

投与期間終了時及び回復期間終了時に、第 5.6.5 項において採血し、腹部大動脈から放血致死させた動物について、下記の病理学的検査を行った。

5.6.7.1 肉眼的病理学検査

投与期間終了時及び回復期間終了時の全生存動物について、全身の諸器官・組織の肉眼的病理学検査を実施し、下記の器官･組織を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液にて保存した。腎臓及び肝臓については組織の一部を液体窒素にて瞬間凍結し、-80℃で保存してその一部をゲノム安全科学部に譲渡した。また最終投与翌日に解剖した雌雄の対照群及び高用量群のうち、番号が若い各 3 例の腎臓について、4%カルボキシメチルセルロースに包埋して凍結ブロックを作製し、-80℃で保存した。固定液に浸した臓器は振盪器にて一晩以上振盪を行った。眼球はダビッドソン固定液にて固定・保存し、3～5 日以内に切り出しを実施し、残臓器は 10%中性緩衝ホルマリン液に保存した。精巣は改変ダビッドソン固定液にて固定し、翌日～3 日以内に切り出しを実施、切り出し後の残臓器は 10%中性緩衝ホルマリン液に保存した。鼻腔を含む頭蓋、胸骨、大腿骨及び脊椎（頚部、胸部及び腰部横断）は、10%ギ酸及び 10%中性緩衝ホルマリン混合液あるいは K-CX（株式会社ファルマ）を用いて脱灰処理を行った。

心臓、脾臓、リンパ節（頸部、腸間膜）、胸腺、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、頭蓋（鼻腔を含む）、気管、肺（気管支を含む）、舌、唾液腺（顎下腺、舌下腺及び耳下腺）、食道、胃（前胃、腺胃）、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、卵管、子宮、乳腺、膣、脳（大脳、小脳）、脊髄（頚部、胸部及び腰部）、三叉神経、坐骨神経、大動脈（胸部）、眼球、ハーダー腺、皮膚、胸骨及び大腿骨（骨髄を含む）、大腿部骨格筋、その他肉眼病変部

5.6.7.2 器官重量

全生存動物について、下記の器官の重量について電子天秤を用いて測定し、剖検日体重を用いて器官重量体重比を算出した。副腎、精巣及び卵巣については、投与期間終了時剖検群では左右併せて、回復期間終了時剖検群では左右別に測定した。

脳、下垂体*、心臓、肺（気管支を含む）**、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺*、精嚢*、卵巣（卵管を含まない）、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）*、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）*。

*：固定後測定。**：測定後 10%中性緩衝ホルマリン液を注入。

5.6.7.3 病理組織学的検査

全動物の採材した全臓器についてパラフィン包埋を実施した。雌雄の投与期間終了時剖検動物の対照群及び高用量群の全臓器並びに低及び中用量群の腎臓及び胃について薄切の後、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を施し、鏡検した。また回復期間終了時剖検動物の腎臓及び胃について同様に HE 染色標本を作製し、鏡検した。さらに、投与期間終了時剖検動物の雌雄の対照群及び高用量群の腎臓について過ヨウ素酸シッフ（PAS）染色、回復期間終了時剖検動物の全例の腎臓についてマッソントリクローム染色を施して鏡検した。

5.7 統計処理

試験期間中の体重、血液学的・血清生化学検査結果及び器官重量について、投与期間終了時剖検群においては各群の分散を Bartlett の方法で検定し、等分散の場合は Dunnett の方法、不等分散の場合は Steel の方法により対照群と各被験物質投与群との間で有意差検定を行った。回復期間終了時剖検群においては各群の分散を F 検定により求め、等分散の場合は t 検定、不等分散の場合は Welch 検定により対照群と被験物質投与群との間で有意差検定を行った。病理所見については、発生頻度を Fisher の正確確率検定、グレーディングを Mann-Whitney の U 検定により有意差検定を行った。$P < 0.05$ の場合を統計学的に有意と判定した。

6 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

・回復期間終了時剖検群の器官重量測定において、試験計画書では副腎、精巣及び卵巣は左右併せて測定することになっていたが、左右別に測定した。上記の臓器の器官重量については左右の合計値をデータとして用いたため、試験結果に影響はないと判断した。

7 試験結果

7.1 生存率及び一般状態

試験期間中、雌雄全ての群において死亡はみられなかった。一般状態観察において、雌雄全ての群において異常は認められなかった。

7.2 体重

体重測定の結果を Table 1 及び 2 に示す。試験期間中、雌雄ともに被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

7.3 摂餌量

試験期間中の各群における 1 匹の 1 日あたりの平均摂餌量を Table 3 及び 4 に示す。雌雄ともに被験物質投与群と対照群との間に明らかな差は認められなかった。

7.4　尿検査

尿検査結果を Table 5, 6, 7 及び 8 に示す。

投与期間終了時剖検群では、雄の 10 mg/kg 群の 1 例に尿糖(1+)が認められた。その他の検査項目において、被験物質投与群と対照群との間に明らかな差は認められなかった。

回復期間終了時剖検群では、全ての検査項目において被験物質投与群と対照群との間に明らかな差は認められなかった。

7.5　血液学的検査

血液学的検査結果を Table 9, 10, 11 及び 12 に示す。

投与期間終了時では、雄の 10 mg/kg 群における RET（絶対値及び相対値）の有意な低値及び雌の 0.3 mg/kg 群における RET（絶対値及び相対値）の有意な高値が認められた。

回復期間終了時では、雄の 10 mg/kg 群において RBC の有意な低値並びに PLT 及び Eosinophil（絶対値）の有意な高値が認められた。

7.6　血清生化学検査

血清生化学検査結果を Table 13, 14, 15 及び 16 に示す。

投与期間終了時では、雄の 10 mg/kg 群において CRE の有意な高値が認められた。また、Na の有意な低値が雄の 3 及び 10 mg/kg 群、Cl の有意な高値が雌の 0.3 mg/kg 以上の群で認められた。さらに、TG の有意な高値が雄の 3 mg/kg 群、IP の有意な低値が雄の 1 及び 3 mg/kg 群、A/G の有意な高値が雌の 0.3 mg/kg に認められた。

回復期間終了時では、雄の 10 mg/kg 群において GLU 及び TG の有意な低値並びに AST の有意な高値が認められ、雌の 3 mg/kg 群においては A/G の有意な低値及び IP の有意な高値がみられた。

7.7　病理学的検査

7.7.1 器官重量

剖検時の最終体重及び器官重量を Table 17, 18, 19 及び 20 に示す。

投与期間終了時では、雄の 10 mg/kg 群において心臓の絶対重量の有意な低値が認められた。

回復期間終了時では、雌の 3 mg/kg 群において腎臓の絶対重量の有意な高値が認められた。

7.7.2 病理組織学的検査

剖検時にみられた肉眼所見を Table 21, 22 及び 23 に示す。

投与期間終了時では、両側腎臓の退色が雄の 10 mg/kg 群の 2 例及び雌の 3 mg/kg 群の 1 例に認められた。また、雄の対照群の 1 例及び 3 mg/kg 群の 1 例の空腸に憩室が認められた。

回復期間終了時では、腎臓の変色巣（3 か所、いずれも退色）が雄の 10 mg/kg 群の 1 例に認められた。

病理組織学的検索結果を Table 24, 25, 26 及び 27 に示す。

投与期間終了時では、腎臓における近位尿細管の空胞化、壊死及び再生が雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群の全例に認められた。さらに、雄の 10 mg/kg 群の 1 例では間質における炎症細胞

浸潤が認められた。また、胃における腺胃粘膜のアポトーシスが雄の 3 mg/kg 群の 4 例、10 mg/kg 群の全例及び雌の 3 mg/kg 群の 4 例に、腺胃粘膜のび漫性過形成が雄の 3 mg/kg 群の 1 例、10 mg/kg 群の 4 例及び雌の 3 mg/kg 群の 2 例に認められた。雄の対照群及び 3 mg/kg 群の各 1 例で肉眼的にみられた空腸の憩室は、病理組織学的にも憩室であることが確認された。その他、肺における限局性炎症が雄の対照群の 1 例及び 10 mg/kg の 2 例並びに雌の対照群の 1 例、肺胞におけるマクロファージの集簇が雌の対照群の 1 例、甲状腺における異所性胸腺が雄の対照群の 2 例及び 10 mg/kg 群の 2 例並びに雌の対照群の 1 例、鰓後嚢胞が雄の対照群の 3 例及び 10 mg/kg 群の 2 例並びに雌の対照群の 2 例及び 3 mg/kg 群の 2 例、精巣上体における精子肉芽腫が雄の 10 mg/kg 群の 1 例、眼球における片側性の網膜ロゼットが雄の対照群の 1 例、下垂体における頭蓋咽頭管遺残が雌の対照群の 1 例、肝臓における限局性の肝細胞壊死が雄の対照群の 1 例及び 10 mg/kg 群の 1 例並びに雌の対照群の 2 例及び 3 mg/kg 群の 2 例に認められた。

回復期間終了時では、雄の 10 mg/kg 群の 1 例の腎臓において肉眼的にみられた 3 か所の変色巣について、2 か所を病理組織学的に検索した（残りの 1 か所は凍結保存した）。その結果、それぞれ限局性の間質の線維化及び再生尿細管が認められた。同個体では腎乳頭における鉱質沈着及び集合管の拡張が認められたが、その他の部位では異常は認められなかった。また雄の 10 mg/kg 群の他の 4 例及び雌の 3 mg/kg 群の全例の腎臓に異常は認められなかった。回復期間終了時の雄の 10 mg/k 群及び雌の 3 mg/kg 群の胃に異常はみられなかった。

8　考察及び結論

尿検査において投与期間終了時剖検群の雄の 10 mg/kg 群の 1 例にみられた尿糖の増加は、病理組織学的検査でみられた腎臓の所見と関連する変化と考えられた。

血液学的検査では、投与期間終了時の雄の 10 mg/kg 群で RET の低値が認められたが、他の赤血球系パラメータの変動や関連する病理組織学的変化はみられなかったため、毒性学的意義は乏しいと判断した。また、投与期間終了時の雌の 0.3 mg/kg でみられた RET の高値は低用量群のみの変化であるため偶発所見と考えられた。回復期間終了時の雄の投与群で変動のみられた他の項目については、いずれも投与期間終了時には認められていない変化であるため、毒性学的意義は乏しいと判断した。

血清生化学検査では、投与期間終了時の雄の 10 mg/kg 群に CRE の高値が認められ、病理組織学的検査でみられた腎臓の所見と関連する変化と考えられた。雄の 3 及び 10 mg/kg 群でみられた Na の低値については、雄の 10 mg/kg 群で病理組織学的検査においてみられた近位尿細管障害に関連する可能性が疑われたが、腎臓に同程度の病理所見がみられた雌の 3 mg/kg 群において Na に変化はみられていないこと、用量相関性が明らかではないこと、また他の電解質パラメータにも意義のある変動は認められていないことから、毒性学的意義は乏しいと判断した。雌の 0.3 mg/kg 以上の群でみられた Cl の高値は、用量相関性を欠くため毒性学的意義は乏しいと判断した。その他に有意差がみられた項目については、低あるいは中用量群のみの変化であるため偶発所見と考えられた。回復期間終了時の雌雄の被験物質投与群で変動のみられた項目については、いずれも投与期間終了時にはみられていない変化であるため毒性学的意義は乏しいと判断した。

器官重量測定では、投与期間終了時の雄の 10 mg/kg 群において心臓の絶対重量の低値が認められたが、相対重量に変化はなく、関連する病理組織学的変化もみられないため、毒性学的意義は乏しいと判断した。回復期間終了時の雌の 3 mg/kg 群でみられた腎臓の絶対重量の高値は投与期間終了時には認められていない変化であり、関連する病理組織学的変化もみられないため、偶発所見と考えられた。

剖検時の肉眼検査では、投与期間終了時の雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群に両側腎臓の退色がみられ、病理組織学的検査では同群の全例に近位尿細管の空胞化、壊死及び再生が認められた。さらに、雄の 10 mg/kg 群の 1 例では間質の炎症細胞浸潤が認められ、尿細管障害に関連した変化と考えられた。雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群においてこれらの所見の程度に明らかな差はなく、雄の 3 mg/kg 群では変化がみられなかったことから、被験物質による腎毒性には性差（雌でより強い）があると考えられ、7 日間反復投与試験の結果と一致していた。

回復期間終了時の腎臓では､雄の 10 mg/kg 群の 1 例において肉眼的に変色巣が 3 か所認められ、そのうち 2 か所について病理組織学的検査を実施した。その結果、一つの変色巣では限局性の間質の線維化が認められた。尿細管障害の程度が重篤な場合には再生が正常に行われず、線維化が進行して慢性病変へ移行することが知られている [1]。よって、本試験の回復期間終了時に線維化がみられた部位では、投与期間終了時点で不可逆的な尿細管障害が生じていたものと考えられた。もう一方の変色巣では再生尿細管が認められ、尿細管障害が回復に向かっているものと考えられた。同個体ではさらに腎乳頭における鉱質沈着及び集合管の拡張が認められた。これら腎乳頭の変化の詳細な発生機序は不明であるが、腎障害の慢性化に伴うものと推察された。上記の変化がみられた個体の腎臓の他の部位において病理組織学的な異常は認められず、また回復期間終了時の雄の 10 mg/kg 群の他の 4 例及び雌の 3 mg/kg の全例においても変化はみられなかった。投与期間終了時には雌雄の高用量群の全例に尿細管障害が生じていたことに鑑みて、本試験でみられた腎障害は回復傾向を示すと総合的に判断した。

投与期間終了時の胃では、腺胃粘膜のアポトーシス及びび慢性過形成が雄の 3 及び 10 mg/kg 群並びに雌の 3 mg/kg 群で認められた。アポトーシスは被験物質の直接曝露により生じた可能性があるが、発生機序の詳細は不明であった。び慢性過形成はアポトーシスに対する再生反応と考えられた。なお、これらの変化の発現頻度及び程度に、腎臓でみられたような雌雄差は認められなかった。回復期間終了時の雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群では胃に異常は認められず、本変化は回復性を示すものと考えられた。

その他、病理組織学的検査で雌雄の対照群及び高用量群で散発的に認められた変化は、いずれもラットにおいて自然発生性に生じることが知られており [2-6]、発現頻度及び程度に明らかな差も認められなかったことから、これらの変化の毒性学的意義は乏しいと判断した。

以上より、プベルル酸の毒性標的は腎臓及び胃（腺胃）であると考えられた。腎臓に対する毒性影響として、尿検査における尿糖の増加及び血清生化学検査における CRE の高値が雄の 10 mg/kg 群に、肉眼的病理学検査における腎臓の退色並びに病理組織学的検査における腎臓の近位尿細管の空胞化、壊死及び再生が雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群に認められ、さらに雄の 10

mg/kg 群では病理組織学的検査において間質の炎症細胞浸潤が認められた。また胃に対する毒性影響として、病理組織学的検査における腺胃粘膜のアポトーシス及びび漫性過形成が雄の 3 及び 10 mg/kg 群並びに雌の 3 mg/kg 群に認められた。以上の結果から、本試験条件下におけるプベルル酸の無毒性量は雌雄ともに 1 mg/kg/day と判断した。

回復期間終了時では、雄の 10 mg/kg 群の 1 例の腎臓に肉眼的病理学検査において変色巣が認められ、病理組織学的検査においては限局性の間質の線維化、再生尿細管並びに腎乳頭における鉱質沈着及び集合管の拡張が認められた。同個体の腎臓の他の部位に異常は認められず、また同群の他の 4 例及び雌の 3 mg/kg 群の全例の腎臓にも異常は観察されなかった。よって、プベルル酸の腎毒性は回復性を有するものと総合的には判断されたものの、重篤な障害が生じた場合には線維化を含む慢性病変に移行する可能性も同時に示唆された。胃の変化は回復期間終了時には観察されず、回復性を示すと考えられた。

9　参考文献

1. Ferenbach DA, Bonventre JV. Mechanisms of maladaptive repair after AKI leading to accelerated kidney ageing and CKD. Nat Rev Nephrol. 2015; 11(5): 264-276.
2. Renne R, Brix A, Harkema J, Herbert R, Kittel B, Lewis D, March T, Nagano K, Pino M, Rittinghausen S, Rosenbruch M, Tellier P, Wohrmann T. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse respiratory tract. Toxicol Pathol. 2009; 37(7 Suppl): 5S-73S.
3. Creasy D, Bube A, de Rijk E, Kandori H, Kuwahara M, Masson R, Nolte T, Reams R, Regan K, Rehm S, Rogerson P, Whitney K. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse male reproductive system. Toxicol Pathol. 2012; 40(6 Suppl): 40S-121S.
4. Brändli-Baiocco A, Balme E, Bruder M, Chandra S, Hellmann J, Hoenerhoff MJ, Kambara T, Landes C, Lenz B, Mense M, Rittinghausen S, Satoh H, Schorsch F, Seeliger F, Tanaka T, Tsuchitani M, Wojcinski Z, Rosol TJ. Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse endocrine system. J Toxicol Pathol. 2018; 31(3 Suppl): 1S-95S.
5. Nolte T, Brander-Weber P, Dangler C, Deschl U, Elwell MR, Greaves P, Hailey R, Leach MW, Pandiri AR, Rogers A, Shackelford CC, Spencer A, Tanaka T, Ward JM. Nonproliferative and proliferative lesions of the gastrointestinal tract, pancreas and salivary glands of the rat and mouse. J Toxicol Pathol. 2016; 29(1 Suppl): 1S-125S.
6. Thoolen B, Maronpot RR, Harada T, Nyska A, Rousseaux C, Nolte T, Malarkey DE, Kaufmann W, Küttler K, Deschl U, Nakae D, Gregson R, Vinlove MP, Brix AE, Singh B, Belpoggi F, Ward JM. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse hepatobiliary system. Toxicol Pathol. 2010; 38(7 Suppl): 5S-81S.

Table 1. Body weight data for male Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

Puberulic acid (mg/kg/day)		Body weight (g)										
		Day 1	Day 4	Day 8	Day 11	Day 15	Day 18	Day 22	Day 25	Day 28	Day 36	Day42
0	Mean	178.0	206.8	246.8	274.1	313.8	337.0	369.8	389.9	410.6	448.4	478.8
	SD	9.9	10.8	13.7	16.0	18.5	21.3	25.4	28.6	30.7	46.5	58.1
	No. of animals examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5	5
1	Mean	179.4	207.9	246.1	271.8	312.3	333.0	364.5	384.4	404.1		
	SD	9.6	16.2	20.3	24.3	31.1	32.4	37.2	41.7	46.5		
	No. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
3	Mean	178.3	205.1	243.1	270.3	308.4	329.2	364.9	384.4	405.3		
	SD	9.5	10.9	12.2	17.0	18.7	24.2	27.2	28.5	32.1		
	No. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
10	Mean	179.2	208.1	247.1	273.2	310.9	330.5	358.3	376.2	392.4	446.4	477.3
	SD	10.6	13.0	18.8	24.2	29.1	31.8	36.9	40.6	41.7	51.8	54.1
	No. of animals examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5	5

Table 2. Body weight data for female Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

Puberulic acid (mg/kg/day)		Body weight (g)										
		Day 1	Day 4	Day 8	Day 11	Day 15	Day 18	Day 22	Day 25	Day 28	Day 36	Day42
0	Mean	151.3	165.7	182.9	191.0	204.8	214.5	222.6	229.9	238.9	248.7	260.5
	SD	8.8	9.8	11.6	14.6	18.5	16.6	18.0	21.5	22.0	24.7	22.0
	No. of animals examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5	5
0.3	Mean	150.4	165.4	181.8	194.7	210.8	217.9	228.2	235.3	245.5		
	SD	10.0	9.3	9.7	15.5	15.9	15.7	18.2	18.8	16.7		
	No. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
1	Mean	151.9	166.9	179.2	184.8	196.7	206.7	217.9	228.7	238.9		
	SD	12.8	18.2	17.4	16.8	15.4	22.4	27.5	31.4	41.0		
	No. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
3	Mean	151.5	164.0	178.9	187.6	200.3	203.2	213.8	220.6	228.0	242.0	252.3
	SD	10.4	12.5	14.6	15.7	19.2	19.7	20.0	27.2	25.1	35.1	31.0
	No. of animals examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5	5

Table 3. Food intake data for male Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

Puberulic acid (mg/kg/day)		Food consumption (g/rat/day)					
		Day 1-8	Day 8-15	Day 15-22	Day 22-28	Day 28-36	Day 36-42
0	Mean	22.4	25.2	26.5	26.9	27.2	27.2
	No. of animals examined	10	10	10	10	5	5
1	Mean	22.8	25.3	26.8	25.4		
	No. of animals examined	5	5	5	5		
3	Mean	22.1	24.9	26.6	27.1		
	No. of animals examined	5	5	5	5		
10	Mean	22.3	25.2	25.7	25.7	28.1	28.8
	No. of animals examined	10	10	10	10	5	5

Table 4. Food intake data for female Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

Puberulic acid (mg/kg/day)		Food consumption (g/rat/day)					
		Day 1-8	Day 8-15	Day 15-22	Day 22-28	Day 28-36	Day 36-42
0	Mean	16.4	16.6	16.3	16.6	16.5	16.3
	No. of animals examined	10	10	10	10	5	5
0.3	Mean	16.3	17.5	16.8	17.4		
	No. of animals examined	5	5	5	5		
1	Mean	15.9	15.5	16.2	17.7		
	No. of animals examined	5	5	5	5		
3	Mean	15.8	15.7	15.4	16.1	16.4	16.2
	No. of animals examined	10	10	10	10	5	5

Table 5. Urinalysis data for male Crl:CD (SD) rats at day 23

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	1	3	10
No. of animals examined		5	5	5	5
Protein	-	0	0	0	0
	±	0	0	0	1
	1+	5	4	5	2
	2+	0	1	0	2
Glucose	-	5	5	5	4
	±	0	0	0	0
	1+	0	0	0	1
Occult blood	-	5	5	5	5
Ketone body	-	3	3	3	3
	±	2	1	1	1
	1+	0	1	1	1
Urobilinogen	0.1	5	4	5	3
	1+	0	1	0	2
Bilirubin	-	5	5	5	5
pH	7.5	0	0	0	1
	8.0	3	3	3	2
	8.5	2	2	2	2

Values are No. of animals.

Table 6. Urinalysis data for female Crl:CD (SD) rats at day 23

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
No. of animals examined		5	5	5	5
Protein	-	0	2	2	2
	±	2	0	1	1
	1+	1	1	2	2
	2+	2	2	0	0
Glucose	-	5	5	5	5
Occult blood	-	5	5	5	5
Ketone body	-	3	3	5	5
	±	2	2	0	0
Urobilinogen	0.1	4	3	5	5
	1+	1	2	0	0
Bilirubin	-	5	5	5	5
pH	7.5	0	0	0	0
	8.0	2	2	2	4
	8.5	3	3	3	1

Values are No. of animals.

Table 7. Urinalysis data for male Crl:CD (SD) rats at day 37

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	10
No. of animals examined		5	5
Protein	-	0	0
	±	0	0
	1+	2	5
	2+	3	0
Glucose	-	5	5
Occult blood	-	5	5
Ketone body	-	1	0
	±	0	4
	1+	4	1
Urobilinogen	0.1	2	3
	1+	3	2
Bilirubin	-	5	5
pH	7.5	0	0
	8.0	3	4
	8.5	2	1

Values are No. of animals.

Table 8. Urinalysis data for female Crl:CD (SD) rats at day 37

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	3
No. of animals examined		5	5
Protein	-	3	2
	±	0	2
	1+	1	1
	2+	1	0
Glucose	-	5	5
Occult blood	-	5	5
Ketone body	-	4	5
	±	1	0
Urobilinogen	0.1	4	5
	1+	0	0
	2+	1	0
Bilirubin	-	5	5
pH	6.5	0	1
	7.0	1	0
	7.5	0	2
	8.0	4	2
	8.5	0	0

Values are No. of animals.

Table 9. Hematology data for male Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	1	3	10
No. of animals examined		5	5	5	5
WBC	($\times10^3$/μL)	8.60 ± 2.17	6.63 ± 0.99	6.72 ± 0.60	6.97 ± 2.22
RBC	($\times10^6$/μL)	7.56 ± 0.46	7.40 ± 0.29	7.54 ± 0.21	7.35 ± 0.38
HGB	(g/dL)	14.6 ± 0.6	14.0 ± 0.3	14.4 ± 0.3	13.8 ± 0.8
HCT	(%)	42.8 ± 2.5	41.7 ± 1.5	43.0 ± 1.2	40.7 ± 3.1
MCV	(fL)	56.6 ± 1.8	56.4 ± 2.3	57.1 ± 0.5	55.4 ± 1.9
MCH	(pg)	19.3 ± 0.9	19.0 ± 0.5	19.1 ± 0.3	18.8 ± 0.4
MCHC	(g/dL)	34.1 ± 0.9	33.7 ± 0.7	33.5 ± 0.3	33.9 ± 0.6
PLT	($\times10^3$/μL)	996 ± 98	994 ± 91	938 ± 41	1061 ± 107
RET	(%)	4.2 ± 0.6	3.8 ± 0.5	4.1 ± 0.4	3.0 ± 0.6**
	($\times10^3$/μL)	319 ± 37	280 ± 33	308 ± 31	220 ± 49**
Differential leukocyte counts					
Neutrophil	(%)	13.1 ± 1.5	10.9 ± 1.9	14.9 ± 3.3	13.7 ± 2.1
	($\times10^3$/μL)	1.12 ± 0.28	0.73 ± 0.20	1.01 ± 0.29	0.96 ± 0.39
Eosinophil	(%)	1.5 ± 0.4	1.7 ± 0.8	1.3 ± 0.6	1.3 ± 0.7
	($\times10^3$/μL)	0.13 ± 0.05	0.11 ± 0.05	0.09 ± 0.04	0.09 ± 0.07
Basophil	(%)	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
	($\times10^3$/μL)	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01
Lymphocyte	(%)	81.7 ± 1.6	83.2 ± 4.0	80.2 ± 3.0	80.7 ± 3.4
	($\times10^3$/μL)	7.04 ± 1.84	5.52 ± 0.90	5.38 ± 0.37	5.62 ± 1.73
Monocyte	(%)	3.6 ± 1.6	3.8 ± 2.3	3.4 ± 1.5	4.1 ± 1.2
	($\times10^3$/μL)	0.29 ± 0.12	0.25 ± 0.15	0.23 ± 0.11	0.29 ± 0.14

Values are means ± SDs.
**: Significantly different from the control at $p < 0.01$.

Table 10. Hematology data for female Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
No. of animals examined		5	5	5	5
WBC	($\times10^3$/μL)	8.04 ± 1.96	7.67 ± 2.47	7.35 ± 1.35	8.74 ± 3.41
RBC	($\times10^6$/μL)	7.47 ± 0.26	7.46 ± 0.14	7.67 ± 0.52	7.82 ± 0.55
HGB	(g/dL)	14.6 ± 0.5	14.4 ± 0.2	14.5 ± 0.6	15.0 ± 0.8
HCT	(%)	42.2 ± 1.6	42.0 ± 0.7	41.7 ± 2.0	43.6 ± 2.1
MCV	(fL)	56.5 ± 0.6	56.3 ± 0.4	54.5 ± 1.6	55.9 ± 2.4
MCH	(pg)	19.6 ± 0.3	19.3 ± 0.3	18.9 ± 0.6	19.2 ± 0.5
MCHC	(g/dL)	34.7 ± 0.4	34.3 ± 0.4	34.7 ± 0.3	34.4 ± 0.6
PLT	($\times10^3$/μL)	1039 ± 172	1040 ± 142	954 ± 109	1010 ± 107
RET	(%)	2.8 ± 0.2	3.8 ± 0.3*	2.9 ± 0.6	3.0 ± 0.6
	($\times10^3$/μL)	212 ± 14	282 ± 29**	219 ± 38	236 ± 38
Differential leukocyte counts					
Neutrophil	(%)	11.7 ± 4.0	9.4 ± 2.7	10.8 ± 2.5	10.7 ± 5.4
	($\times10^3$/μL)	0.97 ± 0.46	0.70 ± 0.24	0.78 ± 0.19	0.97 ± 0.58
Eosinophil	(%)	1.4 ± 0.4	1.4 ± 0.4	1.4 ± 0.5	1.2 ± 0.2
	($\times10^3$/μL)	0.11 ± 0.04	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.03	0.10 ± 0.03
Basophil	(%)	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.3
	($\times10^3$/μL)	0.02 ± 0.02	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.02
Lymphocyte	(%)	83.0 ± 3.8	86.4 ± 3.2	82.3 ± 3.0	84.2 ± 6.7
	($\times10^3$/μL)	6.67 ± 1.63	6.67 ± 2.27	6.05 ± 1.20	7.34 ± 2.87
Monocyte	(%)	3.7 ± 1.5	2.5 ± 0.6	5.3 ± 1.8	3.5 ± 1.8
	($\times10^3$/μL)	0.28 ± 0.07	0.18 ± 0.04	0.39 ± 0.16	0.31 ± 0.19

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 11. Hematology data for male Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

Puberulic acid (mg/kg/day)		0			10		
No. of animals examined		5			5		
WBC	($\times10^3/\mu L$)	7.12	±	1.82	9.36	±	2.00
RBC	($\times10^6/\mu L$)	8.06	±	0.26	7.57	±	0.37*
HGB	(g/dL)	14.9	±	0.7	14.1	±	0.3
HCT	(%)	42.8	±	1.8	41.1	±	0.9
MCV	(fL)	53.0	±	1.0	54.4	±	1.9
MCH	(pg)	18.5	±	0.3	18.7	±	0.6
MCHC	(g/dL)	34.8	±	0.3	34.3	±	0.5
PLT	($\times10^3/\mu L$)	926	±	27	1018	±	30**
RET	(%)	3.0	±	0.4	3.7	±	0.6
	($\times10^3/\mu L$)	244	±	29	280	±	52
Differential leukocyte counts							
Neutrophil	(%)	13.4	±	5.0	12.7	±	3.8
	($\times10^3/\mu L$)	0.91	±	0.27	1.16	±	0.36
Eosinophil	(%)	1.2	±	0.3	1.4	±	0.5
	($\times10^3/\mu L$)	0.08	±	0.02	0.12	±	0.02*
Basophil	(%)	0.2	±	0.1	0.2	±	0.1
	($\times10^3/\mu L$)	0.01	±	0.00	0.02	±	0.01
Lymphocyte	(%)	81.5	±	6.7	82.3	±	5.3
	($\times10^3/\mu L$)	5.86	±	1.89	7.75	±	1.98
Monocyte	(%)	3.7	±	1.9	3.4	±	1.7
	($\times10^3/\mu L$)	0.25	±	0.12	0.31	±	0.16

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 12. Hematology data for female Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

Puberulic acid (mg/kg/day)		0			3		
No. of animals examined		5			5		
WBC	($\times10^3/\mu L$)	6.30	±	0.82	6.04	±	1.11
RBC	($\times10^6/\mu L$)	8.04	±	0.33	7.93	±	0.36
HGB	(g/dL)	15.0	±	0.6	14.6	±	0.6
HCT	(%)	42.7	±	2.0	41.6	±	2.1
MCV	(fL)	53.2	±	0.9	52.6	±	3.2
MCH	(pg)	18.6	±	0.2	18.4	±	0.9
MCHC	(g/dL)	35.1	±	0.3	35.0	±	0.5
PLT	($\times10^3/\mu L$)	955	±	79	1012	±	156
RET	(%)	3.2	±	0.5	2.8	±	0.6
	($\times10^3/\mu L$)	255	±	33	224	±	41
Differential leukocyte counts							
Neutrophil	(%)	12.2	±	4.9	11.1	±	4.2
	($\times10^3/\mu L$)	0.78	±	0.38	0.64	±	0.14
Eosinophil	(%)	1.5	±	0.4	1.7	±	0.4
	($\times10^3/\mu L$)	0.09	±	0.03	0.10	±	0.03
Basophil	(%)	0.2	±	0.1	0.3	±	0.1
	($\times10^3/\mu L$)	0.01	±	0.01	0.02	±	0.01
Lymphocyte	(%)	84.1	±	5.3	84.4	±	4.0
	($\times10^3/\mu L$)	5.28	±	0.65	5.13	±	1.12
Monocyte	(%)	2.0	±	0.6	2.5	±	0.9
	($\times10^3/\mu L$)	0.13	±	0.04	0.15	±	0.06

Values are means ± SDs.

Table 13. Serum biochemistry data for male Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	1	3	10
No. of animals examined		5	5	5	5
TP	(g/dL)	6.00 ± 0.27	5.76 ± 0.26	5.76 ± 0.18	5.88 ± 0.33
A/G		2.36 ± 0.30	2.56 ± 0.22	2.52 ± 0.24	2.50 ± 0.26
ALB	(g/dL)	4.20 ± 0.20	4.14 ± 0.13	4.12 ± 0.15	4.20 ± 0.21
T-BIL	(mg/dL)	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.00	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01
GLU	(mg/dL)	102.6 ± 10.1	116.4 ± 21.1	109.8 ± 20.1	103.8 ± 17.3
TG	(mg/dL)	47.2 ± 11.3	51.2 ± 18.3	75.6 ± 14.8*	57.6 ± 20.2
T-CHO	(mg/dL)	61.2 ± 7.6	57.6 ± 11.1	61.2 ± 6.1	64.4 ± 20.5
BUN	(mg/dL)	12.1 ± 0.7	12.1 ± 1.1	11.6 ± 1.4	12.9 ± 2.6
CRE	(mg/dL)	0.29 ± 0.02	0.31 ± 0.04	0.29 ± 0.03	0.39 ± 0.08**
Na	(mEQ/L)	143.0 ± 0.7	142.2 ± 1.1	141.4 ± 0.5*	141.4 ± 1.1*
Cl	(mEQ/L)	102.0 ± 2.0	103.8 ± 1.3	102.8 ± 1.3	103.4 ± 1.7
K	(mEQ/L)	4.94 ± 0.29	4.86 ± 0.27	4.96 ± 0.17	4.72 ± 0.24
Ca	(mg/dL)	10.26 ± 0.18	10.02 ± 0.30	10.12 ± 0.30	10.20 ± 0.40
IP	(mg/dL)	9.12 ± 0.68	8.24 ± 0.26*	8.12 ± 0.43*	9.04 ± 0.61
AST	(IU/L)	131.2 ± 17.7	114.6 ± 20.6	107.6 ± 14.5	110.0 ± 13.6
ALT	(IU/L)	34.4 ± 5.1	33.4 ± 6.8	33.0 ± 3.0	34.2 ± 3.6
ALP	(IU/L)	205.2 ± 58.9	215.6 ± 40.5	215.2 ± 54.7	244.4 ± 46.2
γ-GTP	(IU/L)	<3	<3	<3	<3

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 14. Serum biochemistry data for female Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
No. of animals examined		5	5	5	5
TP	(g/dL)	6.28 ± 0.41	6.16 ± 0.21	6.30 ± 0.37	6.40 ± 0.41
A/G		2.72 ± 0.35	3.28 ± 0.19*	2.68 ± 0.24	2.98 ± 0.28
ALB	(g/dL)	4.58 ± 0.18	4.72 ± 0.19	4.58 ± 0.33	4.78 ± 0.29
T-BIL	(mg/dL)	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.02	0.08 ± 0.02
GLU	(mg/dL)	90.4 ± 21.5	95.0 ± 18.4	91.4 ± 15.8	106.0 ± 18.3
TG	(mg/dL)	26.4 ± 19.1	31.0 ± 11.6	22.4 ± 10.5	35.8 ± 19.8
T-CHO	(mg/dL)	70.6 ± 2.7	84.0 ± 15.7	66.8 ± 8.9	73.0 ± 7.9
BUN	(mg/dL)	15.5 ± 2.3	14.7 ± 2.9	14.0 ± 1.6	15.8 ± 2.9
CRE	(mg/dL)	0.35 ± 0.05	0.34 ± 0.03	0.34 ± 0.01	0.43 ± 0.12
Na	(mEQ/L)	137.4 ± 0.9	138.6 ± 1.1	138.4 ± 1.1	138.6 ± 0.5
Cl	(mEQ/L)	101.6 ± 0.9	104.0 ± 0.7**	104.0 ± 1.2**	103.8 ± 1.3*
K	(mEQ/L)	4.60 ± 0.25	4.64 ± 0.26	4.62 ± 0.11	4.58 ± 0.27
Ca	(mg/dL)	10.02 ± 0.15	10.08 ± 0.13	10.02 ± 0.36	10.22 ± 0.25
IP	(mg/dL)	7.20 ± 0.73	7.00 ± 0.67	7.22 ± 0.04	7.38 ± 0.44
AST	(IU/L)	111.4 ± 7.2	103.6 ± 14.1	110.0 ± 12.0	99.0 ± 8.8
ALT	(IU/L)	24.8 ± 4.2	25.8 ± 3.7	26.8 ± 6.6	27.4 ± 5.3
ALP	(IU/L)	114.8 ± 31.5	135.0 ± 31.0	140.4 ± 28.0	120.2 ± 33.6
γ-GTP	(IU/L)	<3	<3	<3	<3

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 15. Serum biochemistry data for male Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	10
No. of animals examined		5	5
TP	(g/dL)	6.12 ± 0.23	6.00 ± 0.20
A/G		2.36 ± 0.17	2.56 ± 0.40
ALB	(g/dL)	4.28 ± 0.15	4.28 ± 0.15
T-BIL	(mg/dL)	0.06 ± 0.00	0.07 ± 0.01
GLU	(mg/dL)	136.0 ± 5.2	110.8 ± 18.5*
TG	(mg/dL)	64.0 ± 15.3	35.2 ± 6.8**
T-CHO	(mg/dL)	60.8 ± 11.4	52.0 ± 13.6
BUN	(mg/dL)	14.4 ± 2.8	13.9 ± 0.8
CRE	(mg/dL)	0.29 ± 0.03	0.33 ± 0.04
Na	(mEQ/L)	142.0 ± 0.7	142.2 ± 1.5
Cl	(mEQ/L)	102.6 ± 0.9	103.4 ± 2.3
K	(mEQ/L)	5.20 ± 0.32	5.00 ± 0.14
Ca	(mg/dL)	10.30 ± 0.23	10.08 ± 0.08
IP	(mg/dL)	7.26 ± 0.34	7.60 ± 0.10
AST	(IU/L)	102.4 ± 14.0	136.4 ± 22.0*
ALT	(IU/L)	32.6 ± 3.7	32.2 ± 4.8
ALP	(IU/L)	172.2 ± 25.1	161.0 ± 41.1
γ-GTP	(IU/L)	<3	<3

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 16. Serum biochemistry data for female Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

Puberulic acid (mg/kg/day)		0		3	
No. of animals examined		5		5	
TP	(g/dL)	6.44	± 0.38	6.56	± 0.44
A/G		3.36	± 0.25	2.70	± 0.25**
ALB	(g/dL)	4.96	± 0.33	4.78	± 0.24
T-BIL	(mg/dL)	0.11	± 0.02	0.10	± 0.01
GLU	(mg/dL)	94.6	± 11.1	95.4	± 10.2
TG	(mg/dL)	12.0	± 4.2	14.0	± 7.6
T-CHO	(mg/dL)	62.6	± 11.3	65.6	± 20.3
BUN	(mg/dL)	17.6	± 4.1	16.5	± 2.0
CRE	(mg/dL)	0.40	± 0.08	0.37	± 0.03
Na	(mEQ/L)	140.8	± 0.8	139.8	± 0.8
Cl	(mEQ/L)	104.8	± 1.3	103.4	± 0.5
K	(mEQ/L)	4.42	± 0.13	4.54	± 0.18
Ca	(mg/dL)	10.00	± 0.27	10.24	± 0.18
IP	(mg/dL)	6.42	± 0.24	7.26	± 0.50**
AST	(IU/L)	126.4	± 25.9	123.8	± 11.9
ALT	(IU/L)	25.4	± 4.3	41.6	± 21.6
ALP	(IU/L)	102.6	± 28.0	87.8	± 24.7
γ-GTP	(IU/L)	<3		<3	

Values are means ± SDs.

**: Significantly different from the control at $p < 0.01$.

Table 17. Organ weight data for male Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	1	3	10
No. of animals examined		5	5	5	5
Body weight	(g)	381.3 ± 6.5	375.4 ± 43.1	377.0 ± 28.3	354.6 ± 39.8
Brain	(g)	1.99 ± 0.03	1.98 ± 0.07	2.01 ± 0.08	1.97 ± 0.12
	(g/100gBW)	0.52 ± 0.01	0.53 ± 0.05	0.53 ± 0.04	0.56 ± 0.04
Thymus	(g)	0.61 ± 0.16	0.51 ± 0.09	0.62 ± 0.11	0.59 ± 0.10
	(g/100gBW)	0.16 ± 0.04	0.14 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.17 ± 0.03
Heart	(g)	1.44 ± 0.14	1.45 ± 0.16	1.36 ± 0.15	1.18 ± 0.10*
	(g/100gBW)	0.38 ± 0.04	0.39 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.33 ± 0.03
Lungs	(g)	1.48 ± 0.28	1.30 ± 0.12	1.32 ± 0.09	1.25 ± 0.12
	(g/100gBW)	0.39 ± 0.07	0.35 ± 0.02	0.35 ± 0.01	0.35 ± 0.02
Spleen	(g)	0.71 ± 0.11	0.72 ± 0.14	0.67 ± 0.10	0.67 ± 0.09
	(g/100gBW)	0.19 ± 0.03	0.19 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.19 ± 0.03
Liver	(g)	10.54 ± 0.61	10.71 ± 1.67	10.84 ± 1.03	9.93 ± 1.85
	(g/100gBW)	2.76 ± 0.12	2.84 ± 0.16	2.87 ± 0.11	2.78 ± 0.23
Adrenals	(g)	0.057 ± 0.007	0.053 ± 0.009	0.052 ± 0.010	0.052 ± 0.005
	(mg/100gBW)	15.0 ± 1.7	14.3 ± 2.8	13.7 ± 1.9	14.8 ± 1.9
Kidneys	(g)	2.62 ± 0.25	2.54 ± 0.43	2.66 ± 0.24	2.85 ± 0.30
	(g/100gBW)	0.69 ± 0.06	0.67 ± 0.05	0.71 ± 0.04	0.81 ± 0.14
Testes	(g)	3.41 ± 0.40	3.11 ± 0.34	3.32 ± 0.15	3.10 ± 0.15
	(g/100gBW)	0.90 ± 0.10	0.83 ± 0.05	0.88 ± 0.06	0.88 ± 0.13
Pituitary gland	(g)	0.013 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.013 ± 0.001
	(mg/100gBW)	3.44 ± 0.28	3.28 ± 0.37	3.08 ± 0.28	3.60 ± 0.41
Thyroid gland	(g)	0.020 ± 0.003	0.017 ± 0.004	0.020 ± 0.001	0.021 ± 0.004
	(mg/100gBW)	5.29 ± 0.69	4.60 ± 1.02	5.36 ± 0.22	5.99 ± 1.02
Salivary gland	(g)	0.64 ± 0.10	0.63 ± 0.10	0.61 ± 0.06	0.57 ± 0.05
	(g/100gBW)	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.03	0.16 ± 0.01	0.16 ± 0.02
Seminal vesicle	(g)	1.01 ± 0.08	1.04 ± 0.12	0.99 ± 0.18	1.09 ± 0.11
	(g/100gBW)	0.27 ± 0.02	0.28 ± 0.03	0.26 ± 0.05	0.31 ± 0.03
Prostate	(g)	0.80 ± 0.08	0.83 ± 0.14	0.84 ± 0.10	0.77 ± 0.07
	(g/100gBW)	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.04	0.22 ± 0.02	0.22 ± 0.04

Values are means ± SDs.

*: Significantly different from the control at $p < 0.05$.

Table 18. Organ weight data for female Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
No. of animals examined		5	5	5	5
Body weight	(g)	226.6 ± 22.4	231.3 ± 17.4	221.9 ± 34.6	212.7 ± 23.9
Brain	(g)	1.79 ± 0.07	1.82 ± 0.03	1.84 ± 0.07	1.87 ± 0.06
	(g/100gBW)	0.79 ± 0.06	0.79 ± 0.06	0.84 ± 0.10	0.89 ± 0.12
Thymus	(g)	0.43 ± 0.05	0.44 ± 0.02	0.45 ± 0.13	0.44 ± 0.13
	(g/100gBW)	0.19 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.21 ± 0.04
Heart	(g)	0.85 ± 0.11	0.90 ± 0.10	0.87 ± 0.09	0.83 ± 0.16
	(g/100gBW)	0.38 ± 0.04	0.39 ± 0.02	0.40 ± 0.04	0.39 ± 0.04
Lungs	(g)	1.01 ± 0.04	1.01 ± 0.05	0.98 ± 0.07	0.93 ± 0.08
	(g/100gBW)	0.45 ± 0.03	0.44 ± 0.02	0.45 ± 0.05	0.44 ± 0.01
Spleen	(g)	0.44 ± 0.06	0.52 ± 0.08	0.48 ± 0.02	0.44 ± 0.13
	(g/100gBW)	0.19 ± 0.02	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.21 ± 0.04
Liver	(g)	6.00 ± 0.74	6.28 ± 0.70	5.94 ± 1.00	5.98 ± 0.90
	(g/100gBW)	2.65 ± 0.27	2.71 ± 0.19	2.68 ± 0.08	2.80 ± 0.17
Adrenals	(g)	0.059 ± 0.007	0.064 ± 0.016	0.062 ± 0.008	0.064 ± 0.009
	(mg/100gBW)	26.1 ± 4.2	27.6 ± 6.9	28.2 ± 4.0	30.0 ± 1.5
Kidneys	(g)	1.70 ± 0.28	1.60 ± 0.20	1.59 ± 0.19	1.58 ± 0.17
	(g/100gBW)	0.75 ± 0.07	0.69 ± 0.04	0.72 ± 0.03	0.75 ± 0.06
Ovaries	(g)	0.077 ± 0.008	0.076 ± 0.017	0.080 ± 0.014	0.091 ± 0.010
	(mg/100gBW)	34.3 ± 4.0	33.0 ± 7.4	36.6 ± 9.2	43.2 ± 4.9
Pituitary gland	(g)	0.013 ± 0.002	0.014 ± 0.002	0.015 ± 0.001	0.014 ± 0.003
	(mg/100gBW)	5.95 ± 1.14	5.96 ± 0.93	6.73 ± 0.87	6.54 ± 1.06
Thyroid gland	(g)	0.015 ± 0.001	0.018 ± 0.003	0.015 ± 0.002	0.015 ± 0.003
	(mg/100gBW)	6.45 ± 0.73	7.64 ± 0.99	6.96 ± 0.34	7.22 ± 0.90
Salivary gland	(g)	0.40 ± 0.03	0.40 ± 0.04	0.43 ± 0.06	0.38 ± 0.05
	(g/100gBW)	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.01	0.18 ± 0.01

Values are means ± SDs.

Table 19. Organ weight data for male Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

Puberulic acid (mg/kg/day)		0		10	
No. of animals examined		5		5	
Body weight	(g)	454.1	± 49.9	449.3	± 49.9
Brain	(g)	2.00	± 0.07	2.09	± 0.08
	(g/100gBW)	0.44	± 0.04	0.47	± 0.04
Thymus	(g)	0.59	± 0.16	0.54	± 0.17
	(g/100gBW)	0.13	± 0.03	0.12	± 0.03
Heart	(g)	1.49	± 0.14	1.42	± 0.17
	(g/100gBW)	0.33	± 0.01	0.32	± 0.02
Lungs	(g)	1.44	± 0.07	1.44	± 0.13
	(g/100gBW)	0.32	± 0.02	0.32	± 0.02
Spleen	(g)	0.70	± 0.13	0.77	± 0.15
	(g/100gBW)	0.15	± 0.02	0.17	± 0.03
Liver	(g)	12.67	± 1.95	11.80	± 1.83
	(g/100gBW)	2.79	± 0.26	2.62	± 0.20
Adrenals	(g)	0.050	± 0.004	0.057	± 0.012
	(mg/100gBW)	11.1	± 0.6	12.6	± 1.5
Kidneys	(g)	2.91	± 0.52	2.98	± 0.47
	(g/100gBW)	0.64	± 0.05	0.66	± 0.04
Testes	(g)	3.10	± 0.18	3.32	± 0.39
	(g/100gBW)	0.69	± 0.09	0.74	± 0.07
Pituitary gland	(g)	0.013	± 0.002	0.013	± 0.001
	(mg/100gBW)	2.84	± 0.27	3.00	± 0.22
Thyroid gland	(g)	0.020	± 0.004	0.018	± 0.001
	(mg/100gBW)	4.49	± 0.33	4.09	± 0.57
Salivary gland	(g)	0.68	± 0.11	0.73	± 0.07
	(g/100gBW)	0.15	± 0.02	0.16	± 0.01
Seminal vesicle	(g)	1.31	± 0.25	1.39	± 0.27
	(g/100gBW)	0.29	± 0.05	0.31	± 0.04
Prostate	(g)	1.05	± 0.22	1.11	± 0.27
	(g/100gBW)	0.23	± 0.04	0.24	± 0.04

Values are means ± SDs.

Table 20. Organ weight data for female Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

Puberulic acid (mg/kg/day)		0	3
No. of animals examined		5	5
Body weight	(g)	244.0 ± 23.2	237.2 ± 32.9
Brain	(g)	1.83 ± 0.03	1.89 ± 0.12
	(g/100gBW)	0.75 ± 0.08	0.81 ± 0.10
Thymus	(g)	0.41 ± 0.04	0.41 ± 0.08
	(g/100gBW)	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.02
Heart	(g)	0.90 ± 0.10	0.88 ± 0.07
	(g/100gBW)	0.37 ± 0.03	0.37 ± 0.03
Lungs	(g)	0.99 ± 0.05	1.01 ± 0.11
	(g/100gBW)	0.41 ± 0.03	0.43 ± 0.05
Spleen	(g)	0.47 ± 0.09	0.46 ± 0.08
	(g/100gBW)	0.19 ± 0.03	0.19 ± 0.01
Liver	(g)	5.89 ± 0.41	5.92 ± 1.06
	(g/100gBW)	2.42 ± 0.12	2.49 ± 0.22
Adrenals	(g)	0.058 ± 0.004	0.062 ± 0.008
	(mg/100gBW)	24.0 ± 2.8	26.0 ± 1.0
Kidneys	(g)	1.60 ± 0.13	1.72 ± 0.23*
	(g/100gBW)	0.66 ± 0.03	0.73 ± 0.05
Ovaries	(g)	0.080 ± 0.007	0.075 ± 0.014
	(mg/100gBW)	32.9 ± 0.7	31.6 ± 4.6
Pituitary gland	(g)	0.015 ± 0.002	0.015 ± 0.002
	(mg/100gBW)	6.26 ± 0.57	6.41 ± 0.67
Thyroid gland	(g)	0.015 ± 0.002	0.016 ± 0.003
	(mg/100gBW)	6.27 ± 0.63	6.93 ± 1.06
Salivary gland	(g)	0.42 ± 0.03	0.42 ± 0.08
	(g/100gBW)	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.03

Values are means ± SDs.

*: Significantly different from the control at $p < 0.05$.

Table 21. Macroscopic findings for male Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

	Puberulic acid (mg/kg)	0	1	3	10
	No. of animals examined	5	5	5	5
Organs	Findings				
Kidney	Pale, bilateral	-	-	-	2
Jejunum	Diverticulum	1	-	1	-

Values are No. of animals.

Table 22. Macroscopic findings for female Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

	Puberulic acid (mg/kg)	0	0.3	1	3
	No. of animals examined	5	5	5	5
Organs	Findings				
Kidney	Pale, bilateral	-	-	-	1

Values are No. of animals.

Table 23. Macroscopic findings for male Crl:CD(SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

	Puberulic acid (mg/kg)	0	10
	No. of animals examined	5	5
Organs	Findings		
Kidney	Disclored foci (pale)	-	1

Values are No. of animals.

Table 24. Histopathological findings for male Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

	Puberulic acid (mg/kg)	0	1	3	10
	No. of animals examined	5	5	5	5
Organs	Findings				
Kidney	No abnormalities detected	5	5	5	-
	Vacuolation, tubule, proximal (±/+)	-	-	-	5** (3/2)
	Necrosis, tubule, proximal (±/+)	-	-	-	5** (3/2)
	Regeneration, tubule, proximal (+/++)	-	-	-	5** (3/2)
	Infiltration, interstitium (±)	-	-	-	1
Stomach	No abnormalities detected	5	5	1	0
	Apoptosis, mucosa, glandular stomach (±/+)	-	-	4* (3/1)	5** (2/3)
	Hyperplasia, diffuse, mucosa, glandular stomach (±)	-	-	1	4*
Jejunum	No abnormalities detected	4	N	-[a]	5
	Diverticulum (P)	1	N	1[a]	-
Lung	No abnormalities detected	4	N	N	3
	Inflammation, focal (±)	1	N	N	2
Thyroid	No abnormalities detected	2	N	N	3
	Ectopic tissue, thymus (P)	2	N	N	2
	Ultimobranchial cyst (P)	3	N	N	2
Epididymis	No abnormalities detected	5	N	N	4
	Sperm granuloma (P)	-	N	N	1
Eye	No abnormalities detected	4	N	N	5
	Retinal rosettes, unilateral (±)	1	N	N	-
Liver	No abnormalities detected	4	N	N	4
	Necrosis, hepatocytes, focal (±)	1	N	N	1

Values are No. of animals.

±: Minimal, +: Mild, ++: Moderate, +++: Severe, P: Present, N: Not examined

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively

[a]: The jejunum of one animal in the 3 mg/kg group was examined histopathologically since a diverticulum was detected at necropsy.

Table 25. Histopathological findings for female Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days

	Puberulic acid (mg/kg)	0	0.3	1	3
	No. of animals examined	5	5	5	5
Organs	Findings				
Kidney	No abnormalities detected	5	5	5	-
	Vacuolation, tubule, proximal (±/+)	-	-	-	5** (4/1)
	Necrosis, tubule, proximal (±/+)	-	-	-	5** (4/1)
	Regeneration, tubule, proximal (+/++)	-	-	-	5** (4/1)
Stomach	No abnormalities detected	5	5	5	1
	Apoptosis, mucosa, glandular stomach (±/+)	-	-	-	4* (3/1)
	Hyperplasia, diffuse, mucosa, glandular stomach (±)	-	-	-	2
Lung	No abnormalities detected	3	N	N	5
	Aggregation, machrophage, alveoli (±)	1	N	N	-
	Inflammation, focal (±)	1	N	N	-
Thyroid	No abnormalities detected	2	N	N	3
	Ectopic tissue, thymus (P)	1	N	N	-
	Ultimobranchial cyst (P)	2	N	N	2
Pituitary	No abnormalities detected	4	N	N	5
	Aberrant craniopharyngeal structures (P)	1	N	N	-
Liver	No abnormalities detected	3	N	N	3
	Necrosis, hepatocytes, focal (±)	2	N	N	2

Values are No. of animals.

±: Minimal, +: Mild, ++: Moderate, +++: Severe, P: Present, N: Not examined

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively

Table 26. Histopathological findings for male Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

	Puberulic acid (mg/kg)	0	10
	No. of animals examined	5	5
Organs	Findings		
Kidney	No abnormalities detected	5	4
	Fibrosis, interstitial, focal (++)	-	1
	Regeneration, tubule, proximal (±)	-	1
	Mineralization, renal papilla (±)	-	1
	Dilatation, collecting duct, renal papilla (±)	-	1
Stomach	No abnormalities detected	5	5

Values are No. of animals.
±: Minimal, +: Mild, ++: Moderate, +++: Severe

Table 27. Histopathological findings for female Crl:CD (SD) rats treated with puberulic acid for 28 days and 14 days of recovery

	Puberulic acid (mg/kg)	0	3
	No. of animals examined	5	5
Organs	Findings		
Kidney	No abnormalities detected	5	5
Stomach	No abnormalities detected	5	5

Values are No. of animals.

±: Minimal, +: Mild, ++: Moderate, +++: Severe

ラットを用いたプベルル酸の28日間反復経口投与毒性試験

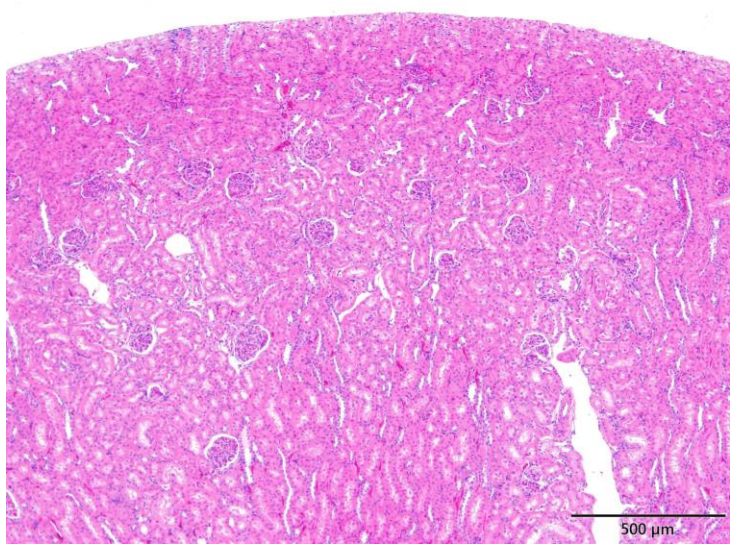
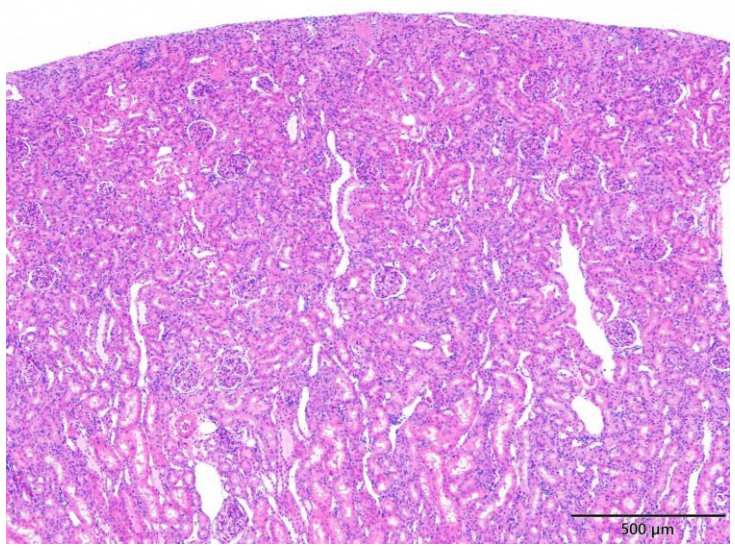
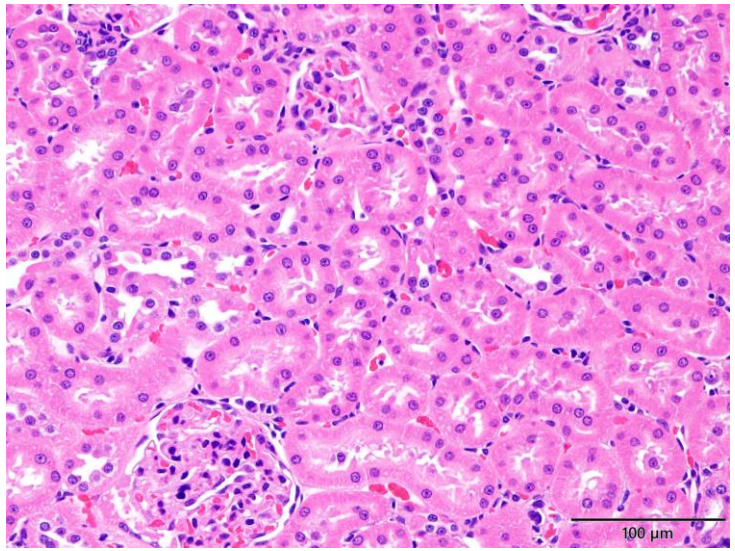
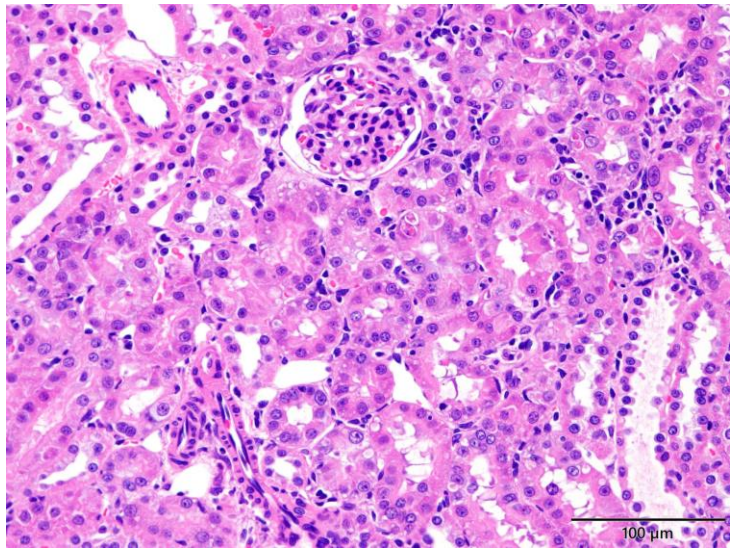
腎臓

病理組織学的検査：投与期間終了時剖検群

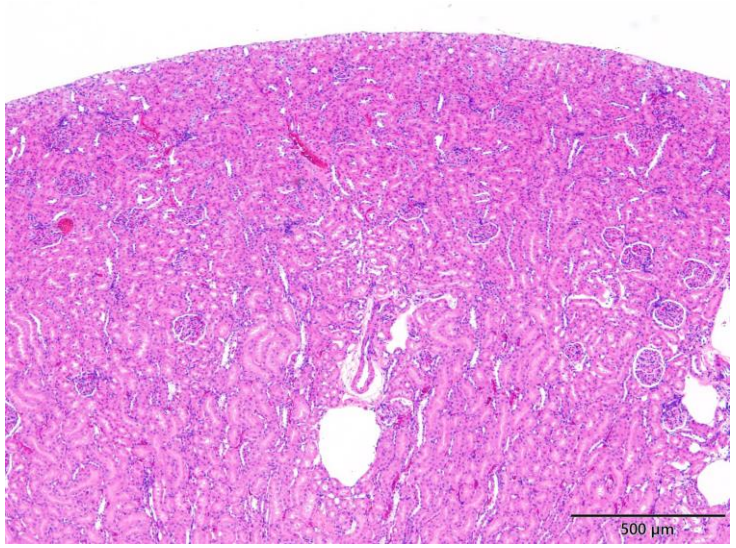
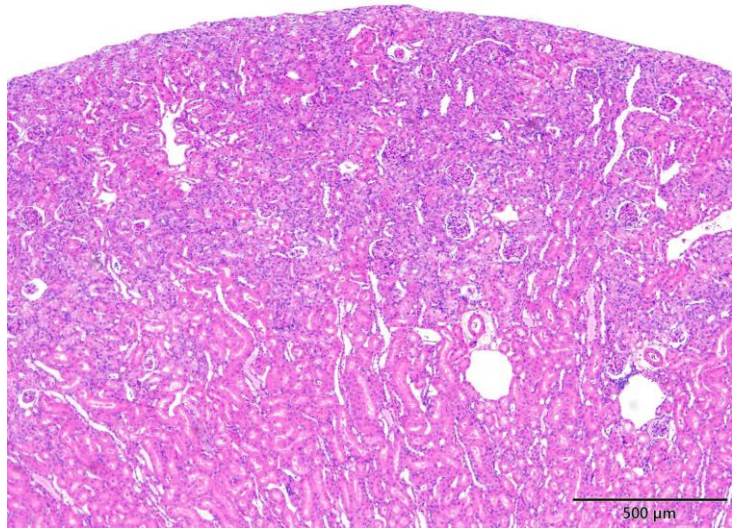
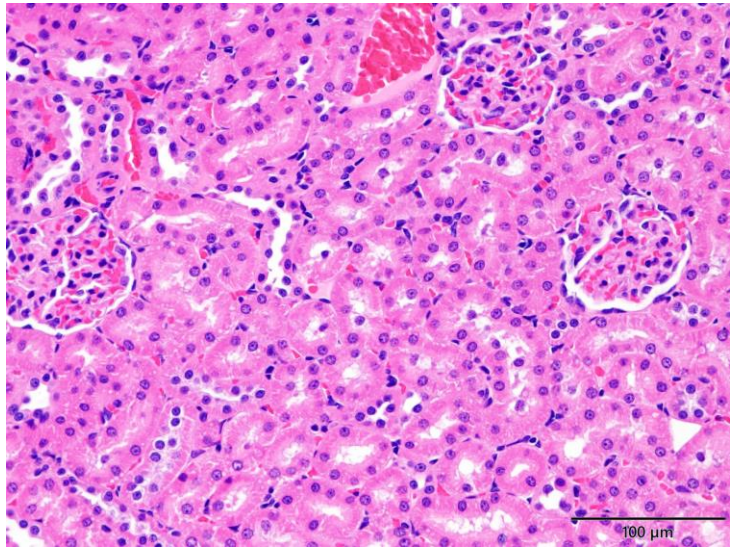
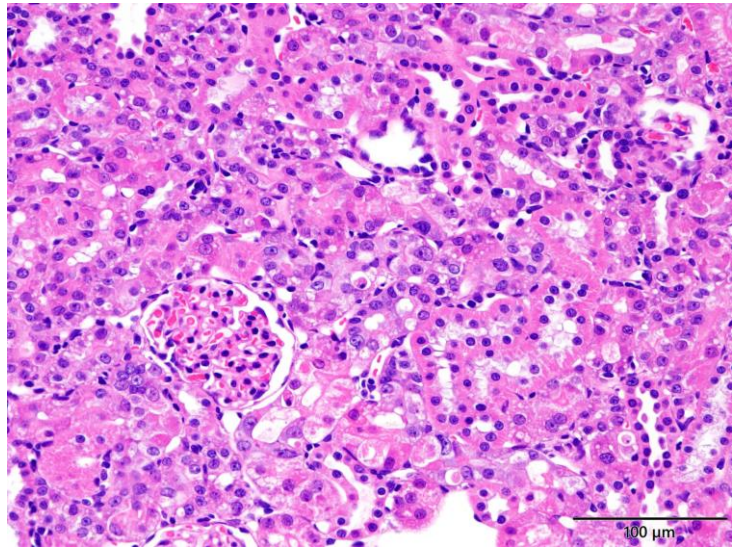
		雄				雌			
	プベルル酸 (mg/kg)	0	1	3	10	0	0.3	1	3
	検査例数	5	5	5	5	5	5	5	5
臓器	所見								
腎臓	近位尿細管の空胞化 (±/+)	-	-	-	5 (3/2)	-	-	-	5 (4/1)
	近位尿細管の壊死 (±/+)	-	-	-	5 (3/2)	-	-	-	5 (4/1)
	近位尿細管の再生 (+/++)	-	-	-	5 (3/2)	-	-	-	5 (4/1)
	間質の炎症細胞浸潤 (±)	-	-	-	1	-	-	-	-

±: 極軽度, +: 軽度, ++: 中等度, +++: 重度

雄（投与期間終了時剖検群）

	対照群 (No. 101)	10 mg/kg群 (No. 132)
低倍率		
高倍率		
	異常なし	近位尿細管の空胞化、壊死、再生 炎症細胞浸潤

雌（投与期間終了時剖検群）

	対照群（No. 201）	3 mg/kg群（No. 231）
低倍率		
高倍率		
	異常なし	近位尿細管の空胞化、壊死、再生

病理組織学的検査：回復期間終了時剖検群

		雄		雌	
	プベルル酸 (mg/kg)	0	10	0	3
	検査例数	5	5	5	5
臓器	所見				
腎臓	限局性の間質の線維化 (++)	-	1	-	-
	近位尿細管の再生 (±)	-	1	-	-
	腎乳頭における鉱質沈着 (±)	-	1	-	-
	腎乳頭における集合管の拡張 (±)	-	1	-	-

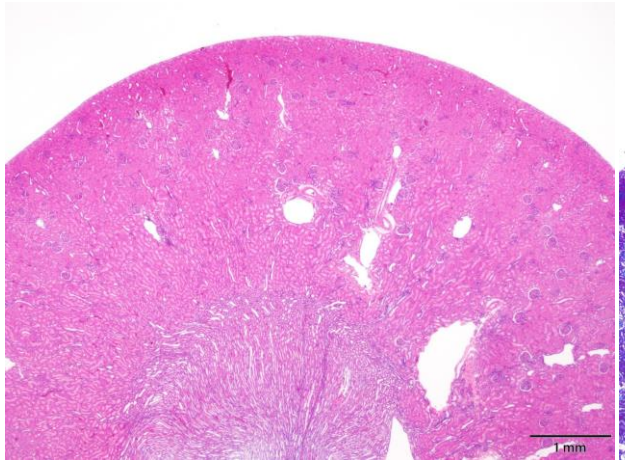
±: 極軽度, +: 軽度, ++: 中等度, +++: 重度

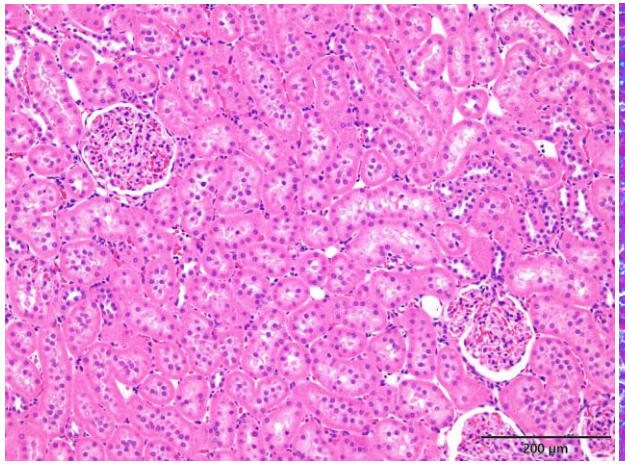
雄（回復期間終了時剖検群）

資料1

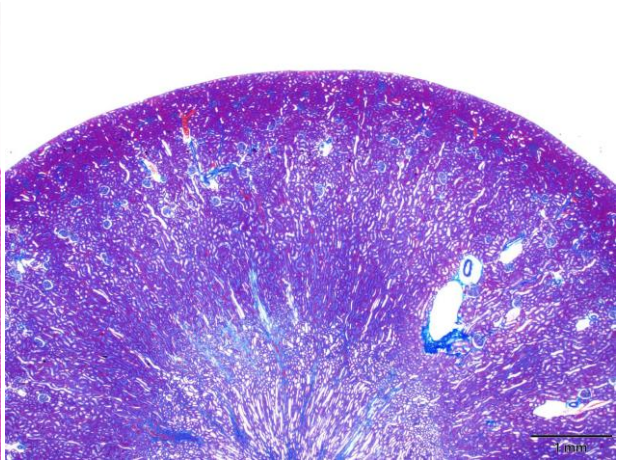
対照群（No. 106）

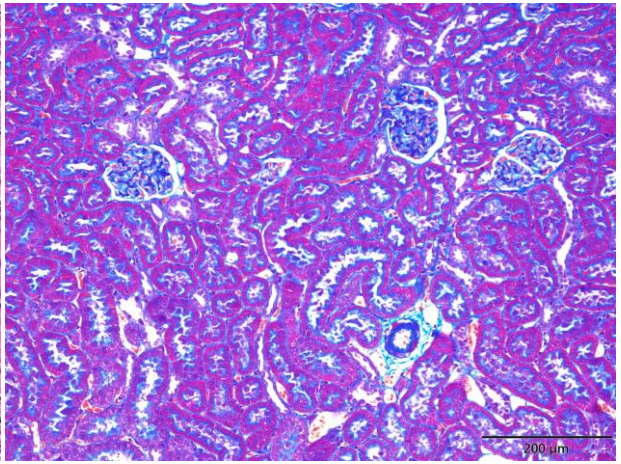
HE染色





マッソントリクローム染色（膠原線維：青）

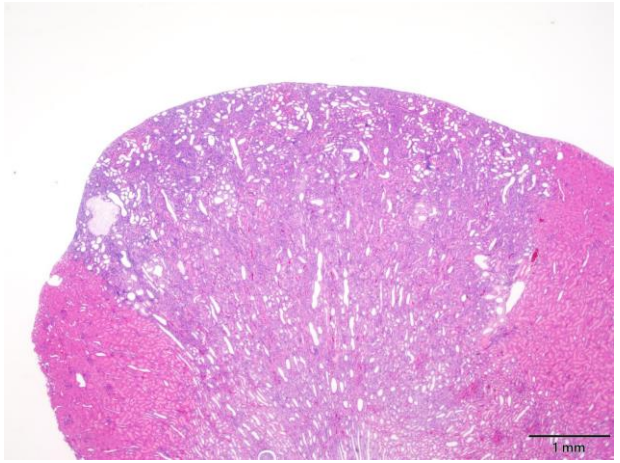


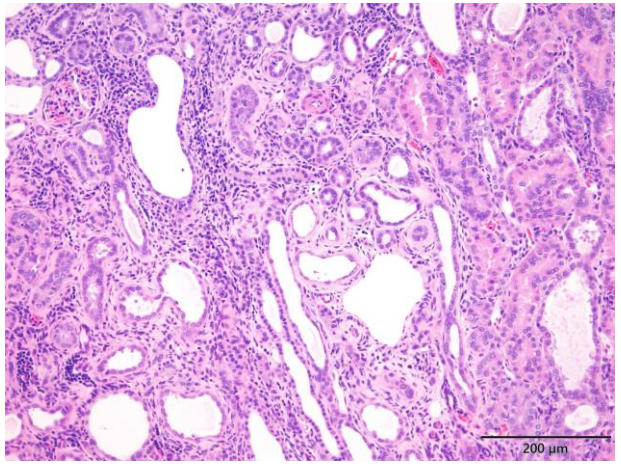


異常なし

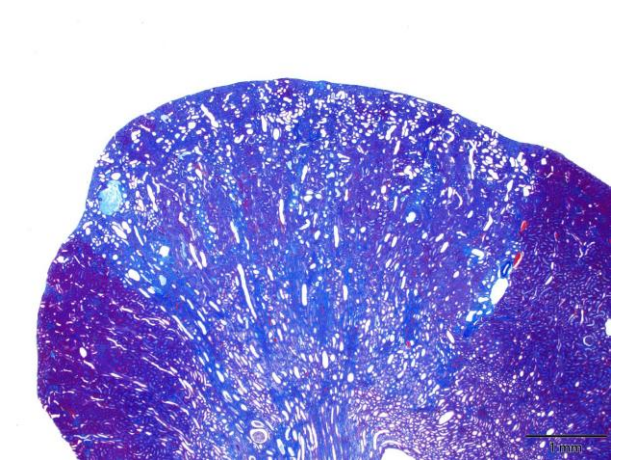
10 mg/kg群（No. 136）

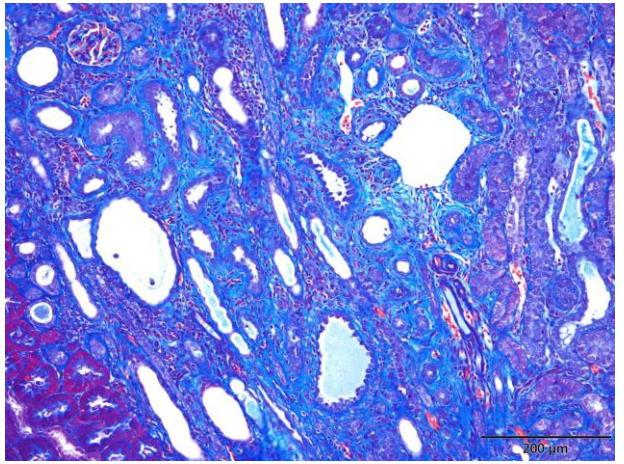
HE染色





マッソントリクローム染色（膠原線維：青）





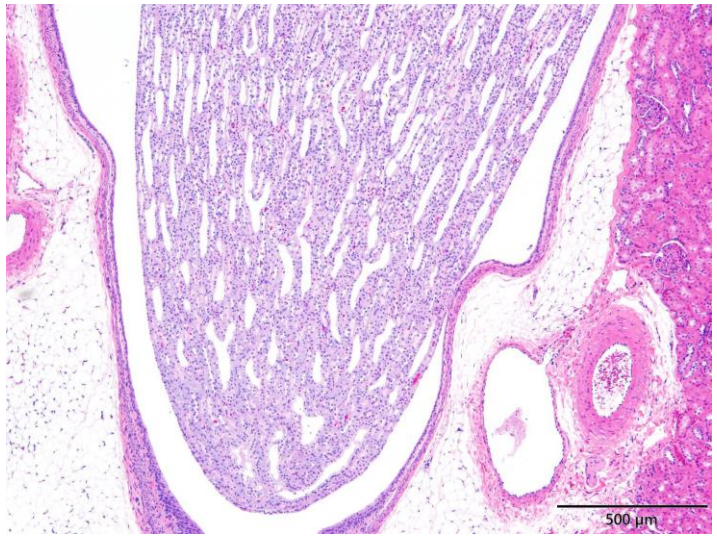
限局性の間質の線維化

低倍率

高倍率

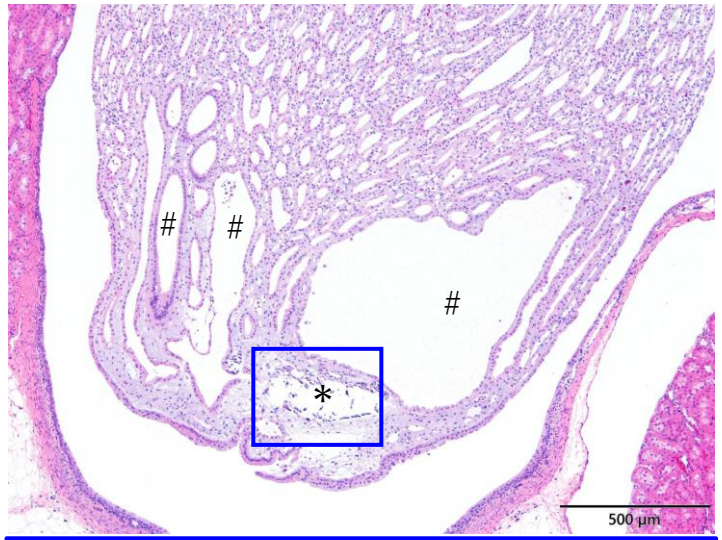
雄（回復期間終了時剖検群）

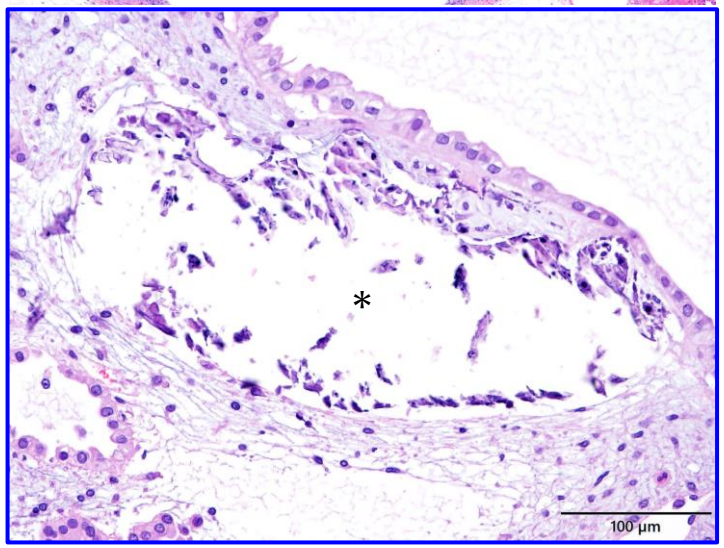
対照群（No. 106）



異常なし

10 mg/kg群（No. 136）





腎乳頭における鉱質沈着 (*)、
集合管の拡張(#)

ラットを用いたプベルル酸の28日間反復経口投与毒性試験

胃

病理組織学的検査：投与期間終了時剖検群

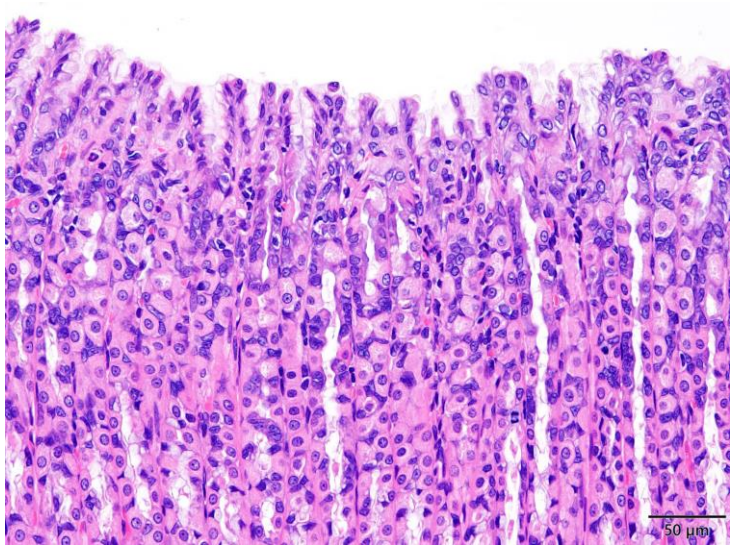
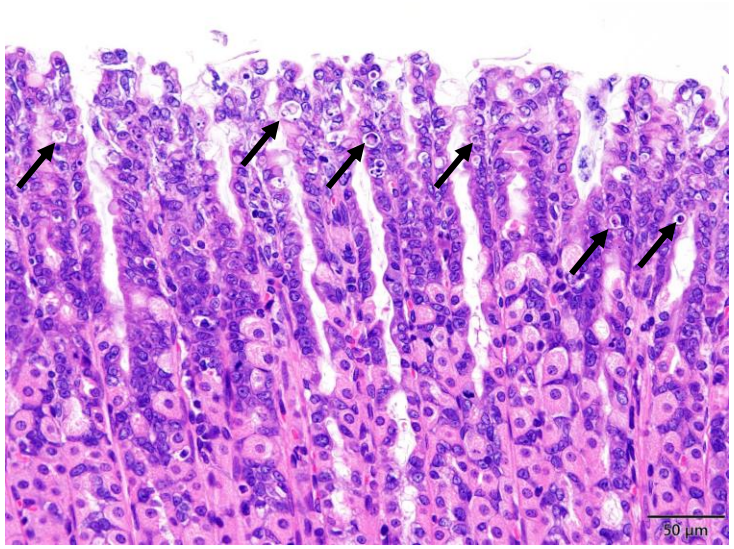
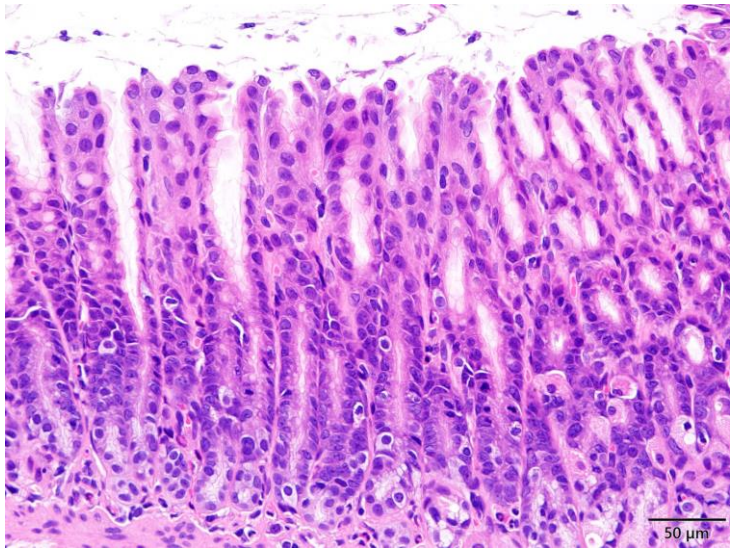
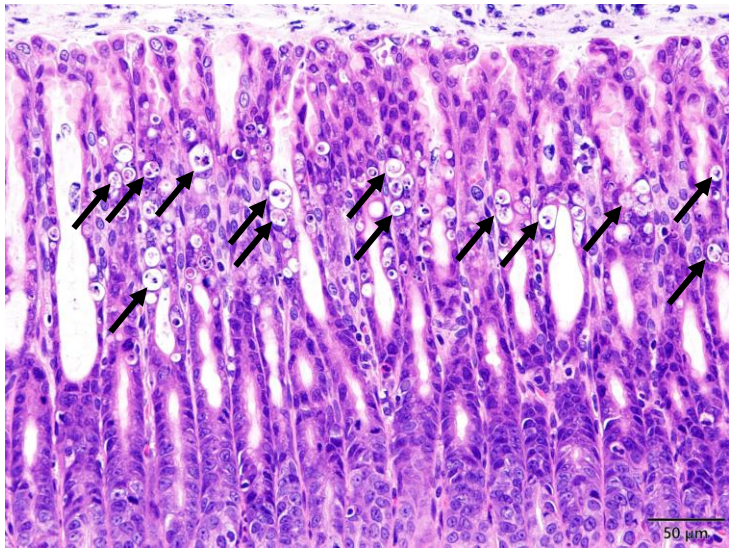
		雄				雌			
	プベルル酸 (mg/kg)	0	1	3	10	0	0.3	1	3
	検査例数	5	5	5	5	5	5	5	5
臓器	所見								
胃	腺胃粘膜のアポトーシス (±/+)	-	-	4 (3/1)	5 (2/3)	-	-	-	4 (3/1)
	腺胃粘膜のび漫性過形成 (±)	-	-	1	4	-	-	-	2

±: 極軽度, +: 軽度, ++: 中等度, +++: 重度

病理組織学的検査：回復期間終了時剖検群

		雄		雌	
	プベルル酸 (mg/kg)	0	10	0	3
	検査例数	5	5	5	5
臓器	所見				
胃	腺胃粘膜のアポトーシス	-	-	-	-
	腺胃粘膜のび漫性過形成	-	-	-	-

雄（投与期間終了時剖検群）

	対照群（No. 101）	10 mg/kg群（No. 132）
胃底腺		
幽門腺		
	異常なし	腺胃粘膜のアポトーシス（↑） 腺胃粘膜のび漫性過形成

資料２

最終報告書

ラットを用いた化合物 Y 及び Z の 7 日間反復経口投与毒性試験

試験番号：24OU

令和 7 年 3 月 12 日

松下　幸平
高須　伸二
赤根　弘敏
石井　雄二
豊田　武士

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター　病理部

要約

各群 5 匹、6 週齢の雌雄 Crl:CD (SD)ラットに対して、化合物 Y 及び Z をコーン油を媒体としてそれぞれ 0.17 及び 0.25 mg/kg の用量で 7 日間強制経口投与し、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、尿検査、血液学的検査、血清生化学検査、器官重量測定及び病理学的検査を実施した。

その結果、雌雄の化合物 Y 及び Z 投与群において、いずれの検査項目にも被験物質投与による毒性影響は認められなかった。

1　試験概要

1.1　試験表題

ラットを用いた化合物 Y 及び Z の 7 日間反復経口投与毒性試験

1.2　試験番号

24OU

1.3　試験目的

化合物 Y 及び Z をラットに 7 日間反復投与した際の毒性影響を検討した。

1.4　ガイドライン

経済協力開発機構（Organisation for Economic Co-operation and Development: OECD）毒性試験ガイドライン「げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験（TG407）」に可能な限り準じて実施した。

1.5　動物愛護

本施設は一般財団法人日本医薬情報センターの評価を受け、厚生労働省の通知「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」（厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知　平成 27 年 2 月 20 日　科発 0220 第 1 号）に適合した施設であると認定されている。本試験は国立医薬品食品衛生研究所「動物実験等の適正な実施に関する規程」に従って計画し、同所の動物実験委員会による審査・承認を経て実施した。

1.6　試験実施施設

国立医薬品食品衛生研究所

〒210-9501　神奈川県川崎市川崎区殿町 3 丁目 25 番 26 号

1.7　試験管理責任者

国立医薬品食品衛生研究所　安全性生物試験研究センター　病理部　部長

豊田　武士

1.8　試験責任者

国立医薬品食品衛生研究所　安全性生物試験研究センター　病理部　第三室長

松下　幸平

2　被験物質

名称	：	化合物 Y 及び Z（compound 2 and 1, respectively, in J Nat Med. 2024. 78:845-8. doi: 10.1007/s11418-024-01827-w.）
供給源	：	Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社
CAS No.	：	-
性状	：	化合物 Y：固体 化合物 Z：粉末
ロット番号	：	化合物 Y：N01414-28-001 化合物 Z：N01414-24-001
純度	：	化合物 Y：99% 化合物 Z：96.1%
保管条件	：	冷凍（-20°C）
取り扱い上の注意	：	使用時には手袋、マスク及び保護メガネ等の適切な保護具を着用し、皮膚及び眼への接触を避けた。

3　媒体

名称	：	コーン油
製造元	：	富士フイルム和光純薬株式会社
ロット番号	：	CKP1056
保管条件	：	室温

4　試験系

4.1　動物

動物種	： ラット
系統	： Crl:CD (SD)（SPF 動物）
性	： 雌雄
入荷時週齢	： 5 週齢
投与開始時週齢	： 6 週齢
購入（使用）匹数	： 雌雄各 16 匹（15 匹）
供給源	： ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社
所在地	： 〒243-0214　神奈川県厚木市下古沢 795
検疫・馴化期間	： 1 週間
群分け後の余剰動物の処置	： 余剰動物は試験系から除外した。

4.2　試験系選択理由

OECD 毒性試験ガイドライン「げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験（TG407）」に基づいて齧歯類の 1 つとしてラットを選択した。本系統は、微生物学的に統御され、遺伝的に安定であることから決定した。

4.3　飼育条件

適切な生物学的防御がなされた環境の部屋で動物を飼育した。

飼育室	： 244
温度	： 23±1℃
相対湿度	： 50±5%
照明時間	： 12 時間／日（7:00~19:00）
換気回数	： 15 回／時間
飼育匹数	： 2～3 匹／ケージ
ケージ交換頻度	： 2 回以上／週
給水瓶交換頻度	： 2 回以上／週

4.4　収容ケージ及び床敷

ケージ	： プラスチック製ケージ（W258×D418×H186 mm）
ケージ蓋	： ステンレス製
床敷	： ソフトチップ（三協ラボサービス株式会社）

4.5　飼料及び給餌方法

飼料	： オリエンタル酵母工業株式会社製固形飼料（CRF-1）
給餌方法	： ケージ蓋に取り付けられている給餌器に入れて、自由摂取

4.6　飲料水及び給水方法

飲料水	： 調製水
給水方法	： 透明な給水瓶を用いて自由摂取

4.7　群分け方法

群分け方法	： 群分け実施日の体重に基づき無作為に実施
群分け実施日	： 投与開始前日

4.8　個体識別法

ケージラベルに試験番号、性別、群名、ケージ番号、被験物質名及び投与濃度、動物番号、試験開始日、剖検日、試験責任者名を明記した。動物の個体識別は、油性インクによる尾部へのマーキングを用いて行った。

5　試験方法

5.1　投与期間及び投与方法

被験物質の投与は、毎日 1 回、投与期間は 7 日間とした。被験物質投与液はディスポーザブルシリンジ及びプラスチック製ディスポーザブル経口ゾンデを用いて 5 mL/kg の容量で強制経口投与した。対照群には同様の方法で媒体を投与した。投与液量は直近の体重に基づいて個体別に算出した。投与液量がシリンジの目盛りの最大容量を超えないよう、適切な容量のシリンジを選択

した。実際の投与液量の有効数字は、使用するシリンジの最小目盛りを下回らないように設定した。被験物質の投与は午前 8:00～12:00 に実施した。

5.2　投与量及び群構成

被験物質の投与量、投与液濃度並びに 1 群当たりの匹数及び動物番号は、下表の通りである。

被験物質：投与量	投与液濃度	匹数（動物番号）	
(mg/kg/day)	（mg/mL）	雄	雌
0	0	5 (101~105)	5 (201~205)
化合物 Y：0.17	0.034	5 (111~115)	5 (211~215)
化合物 Z：0.25	0.05	5 (121~125)	5 (221~225)

5.3　被験物質投与量の設定理由

健康被害の原因とされる機能性表示食品（1 日摂取量 600 mg（内、原料 136.4 mg））の 100 倍量をヒト（体重 50 kg 換算）が摂取した際の、化合物 Y 及び Z の推定摂取量を被験物質投与量とした。化合物 Y 及び Z の投与量の計算式を以下に示す。

製品中の化合物 Y の最大濃度：0.014%
原料中の化合物 Z の最大濃度：0.092%
当該機能性表示食品の 1 日摂取量（100 倍量）：1200 mg/kg（= 600 mg/50 kg x 100）

化合物 Y：0.17 mg/kg/日　（= 0.014g/100g x 1200 mg/kg）
化合物 Z：0.25 mg/kg/日　（= 0.092g/100g x 136.4 mg/600 mg x 1200 mg/kg）

5.4　投与経路及び投与方法の選択理由

投与経路は、ヒトへの曝露経路として想定される経口投与とした。投与方法は、被験物質の安定性に関する情報が得られていないことから、用時調製による強制経口投与を選択した。

5.5　被験物質投与液の調製方法及び調製頻度

安定性に関する情報が得られていないため、用時調製とした。

電子天秤を用いて化合物 Y 及び化合物 Z をバイアル瓶に秤量し、媒体であるコーン油を加えて超音波にて懸濁し、0.034 mg/mL（化合物 Y）及び 0.05 mg/mL（化合物 Z）の投与液を調製した。投与液の分取はスターラーで撹拌しながら行った。

5.6　観察及び測定項目

投与開始日を投与 1 日（Day 1）と起算し、剖検日は投与 7 日の翌日（Day 8）とした。

5.6.1 一般状態

被験物質投与期間中は 1 日 1 回以上、全ての動物について一般状態、生死について観察し、個体別に記録した。

5.6.2 体重

投与 1, 3 及び 7 日の投与前に測定した。また、剖検日に各動物の 1 晩（約 16 時間）絶食後の体重（剖検日体重）を測定した。各時点において全ての動物を電子天秤に乗せ、個体別に体重を測定した。

5.6.3 摂餌量

給餌量を投与開始日前日、投与 1 及び 3 日に、残餌量を投与 1, 3 及び 7 日に測定した。各ケージの給餌量及び残餌量を電子天秤にて測定し、1 匹当たりの 1 日平均摂餌量を算出した。

5.6.4 尿検査

全例について投与 6 日に以下の検査を実施した。

動物は検査当日、採尿ラックに移し蓄尿を開始した。蓄尿中は採尿ラック用の給水瓶及び給餌器を用いて 4.5 項及び 4.6 項に記載の飼料及び飲料水を投与した。採尿ラックへの移動は群単位で実施した。採尿ラックに収容後、約 4 時間の時点で採取した蓄尿（新鮮尿）を用いて、以下の項目について試験紙（オーションスティックス 7EA、アークレイ株式会社）及び自動尿分析装置（オーションイレブン AE-4021、アークレイ株式会社）を用いて検査を実施した。

検査項目：潜血、pH、ケトン体、尿糖、蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビン

新鮮尿の回収後、採尿用の容器を付け替えた後、約 20 時間蓄尿した尿を用いて、以下の検査を実施した。ナトリウム濃度、カリウム濃度及び塩素濃度の測定はオリエンタル酵母工業株式会社に委託して実施し、尿量を用いて総排泄量を算出した。

検査項目：尿量、比重、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、塩素（Cl）

5.6.5 血液学的検査

被験物質投与期間終了時の全生存動物について検査を実施した。検査試料（血液）の採取は、採取前日の夕方から絶食（給水は継続）させた動物を、当日にイソフルラン麻酔下で開腹し、腹部大動脈から行った。動物の採血（屠殺）順は、群ごとに絶食時間が偏らないよう設定した。

採取した血液の一部を抗凝固剤（EDTA-2K）入りの試験管（ベネジェクト II 真空採血管、テルモ株式会社）に移し、下記の項目について自動血球計算装置 IDEXX プロサイト Dx（アイデックスラボラトリーズ株式会社）を用いて測定した。

検査項目：赤血球数（RBC）、ヘモグロビン濃度（HGB）、ヘマトクリット値（HCT）、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球血色素濃度（MCHC）、血小板数（PLT）、白血球数（WBC）、網状赤血球数（RET）、白血球分画（好中球；Neutrophil、好酸球；Eosinophil、好塩基球；Basophil、単球；Monocyte、リンパ球；Lymphocyte）

5.6.6 血清生化学検査

被験物質投与期間終了時の全生存動物について検査を実施した。前項で採取した血液の残りを血清分離剤（ポリエステルゲル）及び凝固促進用シリカ微粒子入りの試験管（BD バキュテイナ採血管、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）に分注し、遠心分離して血清を得た。血清は-20℃以下で保存した。測定はオリエンタル酵母工業株式会社に委託して実施した。測定項目は以下の通りである。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ（γ-GTP）、総ビリルビン（T-BIL）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（CRE）、ブドウ糖（GLU）、総コレステロール（T-CHO）、トリグリセリド（TG）、総蛋白（TP）、アルブミン（ALB）、A/G 比（A/G）、無機リン（IP）、カルシウム（Ca）、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、塩素（Cl）

5.6.7 病理学的検査

投与期間終了時に、第 5.6.5 項において採血し、腹部大動脈から放血致死させた動物について、下記の病理学的検査を行った。

5.6.7.1 肉眼的病理学検査

投与期間終了時に全生存動物について、全身の諸器官・組織の肉眼的病理学検査を実施し、下記の器官･組織を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液にて保存した。固定液に浸した臓器は振盪器にて一晩以上振盪を行った。眼球はダビッドソン固定液にて固定・保存し、3～5 日以内に切り出しを実施し、残臓器は 10%中性緩衝ホルマリン液に保存した。精巣は改変ダビッドソン固定液にて固定し、翌日～3 日以内に切り出しを実施、切り出し後の残臓器は 10%中性緩衝ホルマリン液に保存した。

心臓、脾臓、リンパ節（頸部、腸間膜）、胸腺、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、頭蓋（鼻腔を含む）、気管、肺（気管支を含む）、舌、唾液腺（顎下腺、舌下腺及び耳下腺）、食道、胃（前胃、腺胃）、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、卵管、子宮、乳腺、膣、脳（大脳、小脳）、脊髄（頚部、胸部及び腰部）、三叉神経、坐骨神経、大動脈（胸部）、眼球、ハーダー腺、皮膚、胸骨及び大腿骨（骨髄を含む）、大腿部骨格筋、その他肉眼病変部

5.6.7.2 器官重量

全生存動物について、下記の器官の重量について電子天秤を用いて測定し、剖検日体重を用いて器官重量体重比を算出した。腎臓、副腎、精巣及び卵巣は左右併せて測定した。

脳、下垂体*、心臓、肺（気管支を含む）**、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺*、精嚢*、卵巣（卵管を含まない）、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）*、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）*。

*：固定後測定した。**：測定後 10%中性緩衝ホルマリン液を注入した。

5.6.7.3 病理組織学的検査

全動物の採材した全臓器についてパラフィン包埋を実施し、薄切の後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、鏡検した。

5.7 統計処理

試験期間中の体重、尿検査結果（定量値）、血液学的・血清生化学検査結果及び器官重量については各群の分散をF検定で検定し、等分散の場合はStudentのt検定、不等分散の場合はAspin-Welchのt検定により対照群と各被験物質投与群との間で有意差検定を行った。病理所見については、発生頻度をFisherの正確確率検定、グレーディングをMann-WhitneyのU検定により有意差検定を行った。$P < 0.05$の場合を統計学的に有意と判定した。

6 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

・5.6.4項の尿検査において、雄の化合物Z投与群の1例について新鮮尿が採取できなかったため検査例数が1例減少したが、他の個体で評価できているため試験結果に影響はないと判断した。

7 試験結果

7.1 生存率及び一般状態

試験期間中、雌雄全ての群において死亡及び一般状態観察における異常は認められなかった。

7.2 体重

体重測定の結果をTable 1及び2に示す。

試験期間中、雌雄ともに被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

7.3 摂餌量

試験期間中の各群における1匹の1日あたりの平均摂餌量をTable 3及び4に示す。

雌雄ともに被験物質投与群と対照群との間に明らかな差は認められなかった。

7.4 尿検査

尿検査結果をTable 5, 6, 7及び8に示す。

雄の化合物Z投与群においてNa濃度及びCl濃度の有意な低値が認められた。雌の化合物Y投与群及び化合物Z投与群においてNa総排泄量の有意な低値が認められ、雌の化合物Y投与群ではK濃度の有意な高値も認められた。

7.5 血液学的検査

血液学的検査結果をTable 9及び10に示す。

雄の化合物Y投与群においてMonocyte（相対値）の有意な高値が認められ、雄の化合物Z投与群ではNeutrophil（相対値）の有意な高値及びLymphocyte（相対値）の有意な低値が認められた。

雌の化合物 Z 投与群において WBC、Lymphocyte（絶対値）及び Monocyte（絶対値）の有意な高値が認められた。

7.6　血清生化学検査

血清生化学検査結果を Table 11 及び 12 に示す。

雄の化合物 Z 投与群において Ca 及び IP の有意な高値が認められた。雌の化合物 Z 投与群において GLU、Cl 及び ALP の有意な高値並びに K の有意な低値が認められた。

7.7　病理学的検査

7.7.1 器官重量

剖検日体重及び器官重量を Table 13 及び 14 に示す。

雌雄の全ての器官重量において被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

7.7.2 病理組織学的検査

剖検時の肉眼的病理学検査において、雄の化合物 Y 投与群の 1 例に空腸の憩室が認められた。

病理組織学的検査の結果を Table 15 及び 16 に示す。

雄の化合物 Y 投与群の 1 例において肉眼的に認められた空腸の憩室は、組織学的にも憩室であることが確認された。また甲状腺における異所性胸腺及び鰓後嚢胞並びに下垂体における嚢胞が、雌雄の対照群及び被験物質投与群に散発的に認められた。

雌雄の全群において、他の臓器に病理組織学的所見は認められなかった。

8　考察及び結論

尿検査では、雄の化合物 Z 投与群に Na 濃度及び Cl 濃度の低値、雌の化合物 Y 投与群及び化合物 Z 投与群に Na 総排泄量の低値が認められ、雌の化合物 Y 投与群ではさらに K 濃度の高値が認められたが、これらの電解質の血清中濃度に変化はなく、また病理組織学的検査においても腎臓に変化は認められていないことから、毒性学的意義に乏しい偶発的な変動と判断した。

血液学的検査では、雄の化合物 Y 投与群に Monocyte（相対値）の高値、雄の化合物 Z 投与群に Neutrophil（相対値）の高値及び Lymphocyte（相対値）の低値並びに雌の化合物 Z 投与群に WBC、Lymphocyte（絶対値）及び Monocyte（絶対値）の高値が認められた。病理組織学的検査において検索した全ての臓器に炎症性病変はみられておらず、また関連するリンパ組織及び造血器においても病理学的変化は認められていないため、これらの変化の毒性学的意義は乏しいと判断した。

血清生化学検査では、雄の化合物 Z 投与群に Ca 及び IP の高値、雌の化合物 Z 投与群に GLU、Cl 及び ALP の高値並びに K の低値が認められたが、検索した全ての臓器において関連する病理組織学的変化はみられていないため、毒性学的意義は乏しいと判断した。

病理学的検査では、空腸、甲状腺及び下垂体における所見が対照群を含む各群に散発的に認められたが、いずれもラットに自然発生することが知られている変化であり[1,2]、毒性学的意義はないと判断した。

以上より、本試験条件下において化合物 Y 及び Z 投与による毒性影響は認められなかった。

9　参考文献

1. Brändli-Baiocco A, Balme E, Bruder M, Chandra S, Hellmann J, Hoenerhoff MJ, Kambara T, Landes C, Lenz B, Mense M, Rittinghausen S, Satoh H, Schorsch F, Seeliger F, Tanaka T, Tsuchitani M, Wojcinski Z, Rosol TJ. Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse endocrine system. J Toxicol Pathol. 2018; 31(3 Suppl): 1S-95S.
2. Nolte T, Brander-Weber P, Dangler C, Deschl U, Elwell MR, Greaves P, Hailey R, Leach MW, Pandiri AR, Rogers A, Shackelford CC, Spencer A, Tanaka T, Ward JM. Nonproliferative and proliferative lesions of the gastrointestinal tract, pancreas and salivary glands of the rat and mouse. J Toxicol Pathol. 2016; 29(1 Suppl): 1S-125S.

Table 1. Body weight data for male Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

Group		Body weight (g)		
		Day 1	Day 3	Day 7
Control	Mean	178.0	193.1	217.1
	SD	4.9	7.2	7.1
	No. of animals examined	5	5	5
Compound Y	Mean	179.3	194.7	221.1
	SD	10.6	11.5	17.9
	No. of animals examined	5	5	5
Compound Z	Mean	180.9	197.9	225.2
	SD	11.3	12.0	14.5
	No. of animals examined	5	5	5

Table 2. Body weight data for female Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

Group		Body weight (g)		
		Day 1	Day 3	Day 7
Control	Mean	170.9	174.9	189.4
	SD	9.2	9.3	13.0
	No. of animals examined	5	5	5
Compound Y	Mean	169.6	178.6	188.6
	SD	6.1	7.4	9.8
	No. of animals examined	5	5	5
Compound Z	Mean	170.8	174.6	184.7
	SD	6.4	6.0	8.4
	No. of animals examined	5	5	5

Table 3. Food intake data for male Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

Group		Food consumption (g/rat/day)	
		Day 1-3	Day 3-7
Control	Mean	18.5	18.3
	No. of animals examined	5	5
Compound Y	Mean	18.8	19.0
	No. of animals examined	5	5
Compound Z	Mean	19.2	18.9
	No. of animals examined	5	5

Table 4. Food intake data for female Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

Group		Food consumption (g/rat/day)	
		Day 1-3	Day 3-7
Control	Mean	14.0	14.9
	No. of animals examined	5	5
Compound Y	Mean	15.5	14.3
	No. of animals examined	5	5
Compound Z	Mean	14.2	14.1
	No. of animals examined	5	5

Table 5. Urinalysis data in fresh urine at day 6 for male Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
	No. of animals examined	5	5	4[a]
Protein	-	0	0	0
	±	1	2	0
	1+	2	2	4
	2+	2	1	0
Glucose	-	5	5	4
Occult blood	-	5	5	4
Ketone body	-	1	2	0
	±	1	2	3
	1+	3	1	1
Urobilinogen	0.1	3	3	3
	1+	1	1	1
	2+	1	1	0
Bilirubin	-	4	4	4
	1+	1	1	0
pH	7.0	2	0	0
	7.5	0	1	2
	8.0	2	0	0
	8.5	1	4	2

Values are No. of animals.

[a]: The number of effective animals was reduced to four due to insufficient samples.

Table 6. Urinalysis data in fresh urine at day 6 for female Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
	No. of animals examined	5	5	5
Protein	-	1	0	4
	±	1	1	0
	1+	2	3	1
	2+	1	1	0
Glucose	-	5	5	5
Occult blood	-	5	5	5
Ketone body	-	1	1	5
	±	2	2	0
	1+	2	2	0
Urobilinogen	0.1	3	3	5
	1+	2	1	0
	2+	0	1	0
Bilirubin	-	5	5	5
pH	6.0	1	0	0
	6.5	0	0	0
	7.0	0	2	1
	7.5	0	1	0
	8.0	3	0	3
	8.5	1	2	1

Values are No. of animals.

Table 7. Urinalysis data in cumulative urine at day 6 for male Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
	No. of animals examined	5	5	5
Volume	(mL)	3.58 ± 0.93	4.38 ± 1.55	6.30 ± 3.53
Specific gravity		1.09 ± 0.01	1.08 ± 0.01	1.07 ± 0.03
Na	(mEq/L)	327.8 ± 59.9	264.6 ± 59.1	190.6 ± 102.6*
	(mg/20h)	26.6 ± 4.3	25.5 ± 5.9	21.8 ± 6.2
K	(mEq/L)	536.0 ± 91.9	506.0 ± 102.5	374.4 ± 174.2
	(mg/20h)	71.9 ± 10.7	80.8 ± 17.4	73.5 ± 19.7
Cl	(mEq/L)	435.6 ± 68.5	375.6 ± 81.0	266.8 ± 145.9*
	(mg/20h)	54.3 ± 8.3	55.2 ± 9.4	48.3 ± 17.1

Values are means ± SDs.

*: Significantly different from the control at $p < 0.05$.

Table 8. Urinalysis data in cumulative urine at day 6 for female Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
	No. of animals examined	5	5	5
Volume	(mL)	6.52 ± 3.44	3.34 ± 1.34	3.94 ± 0.81
Specific gravity		1.07 ± 0.02	1.09 ± 0.02	1.08 ± 0.02
Na	(mEq/L)	184.6 ± 67.8	225.4 ± 63.6	210.4 ± 54.0
	(mg/20h)	24.5 ± 4.2	15.9 ± 1.5**	18.6 ± 2.1*
K	(mEq/L)	324.5 ± 92.0	501.0 ± 99.7*	407.0 ± 102.3
	(mg/20h)	73.6 ± 20.4	60.4 ± 10.8	59.3 ± 7.8
Cl	(mEq/L)	242.0 ± 73.8	350.4 ± 94.0	291.2 ± 69.9
	(mg/20h)	50.2 ± 11.1	38.2 ± 3.2	39.5 ± 4.0

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 9. Hematology data for male Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
No. of animals examined		5	5	5
WBC	($\times 10^3/\mu L$)	7.45 ± 1.07	6.24 ± 1.84	7.01 ± 1.59
RBC	($\times 10^6/\mu L$)	6.2 ± 0.2	6.1 ± 0.3	6.3 ± 0.2
HGB	(g/dL)	12.8 ± 0.4	12.9 ± 0.6	13.1 ± 0.3
HCT	(%)	38.8 ± 0.8	39.5 ± 1.9	40.0 ± 1.0
MCV	(fL)	62.4 ± 0.5	64.5 ± 3.0	63.4 ± 2.3
MCH	(pg)	20.6 ± 0.4	21.2 ± 1.1	20.7 ± 0.6
MCHC	(g/dL)	33.0 ± 0.4	32.8 ± 0.3	32.7 ± 0.5
PLT	($\times 10^3/\mu L$)	996 ± 36	925 ± 131	1075 ± 76
RET	(%)	8.8 ± 0.7	9.6 ± 1.4	9.8 ± 0.9
	($\times 10^3/\mu L$)	544 ± 34	585 ± 71	615 ± 42
Differential leukocyte counts				
Neutrophil	(%)	10.6 ± 3.2	11.8 ± 3.0	16.7 ± 4.4*
	($\times 10^3/\mu L$)	0.78 ± 0.20	0.74 ± 0.25	1.17 ± 0.47
Eosinophil	(%)	0.8 ± 0.3	1.1 ± 0.4	0.9 ± 0.3
	($\times 10^3/\mu L$)	0.06 ± 0.03	0.07 ± 0.03	0.06 ± 0.01
Basophil	(%)	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.3	0.3 ± 0.2
	($\times 10^3/\mu L$)	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
Lymphocyte	(%)	85.6 ± 3.7	82.7 ± 3.6	78.4 ± 5.3*
	($\times 10^3/\mu L$)	6.39 ± 1.06	5.16 ± 1.56	5.50 ± 1.31
Monocyte	(%)	2.6 ± 0.8	4.0 ± 0.7*	3.8 ± 1.0
	($\times 10^3/\mu L$)	0.19 ± 0.06	0.26 ± 0.10	0.27 ± 0.10

Values are means ± SDs.

*: Significantly different from the control at $p < 0.05$.

Table 10. Hematology data for female Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
No. of animals examined		5	5	5
WBC	($\times 10^3/\mu L$)	5.60 ± 0.73	6.52 ± 2.03	8.13 ± 1.44**
RBC	($\times 10^6/\mu L$)	6.9 ± 0.4	6.6 ± 0.1	6.9 ± 0.2
HGB	(g/dL)	13.9 ± 0.9	13.4 ± 0.3	13.8 ± 0.1
HCT	(%)	41.6 ± 3.0	39.7 ± 1.2	41.3 ± 0.3
MCV	(fL)	59.9 ± 2.0	60.6 ± 2.5	60.3 ± 2.5
MCH	(pg)	20.1 ± 0.7	20.4 ± 0.6	20.2 ± 0.7
MCHC	(g/dL)	33.6 ± 0.5	33.7 ± 0.5	33.4 ± 0.4
PLT	($\times 10^3/\mu L$)	1030 ± 94	1088 ± 83	1063 ± 24
RET	(%)	4.4 ± 1.4	5.3 ± 0.7	4.6 ± 0.6
	($\times 10^3/\mu L$)	299 ± 78	350 ± 45	312 ± 38
Differential leukocyte counts				
Neutrophil	(%)	6.7 ± 1.5	8.5 ± 2.5	7.9 ± 1.7
	($\times 10^3/\mu L$)	0.38 ± 0.11	0.52 ± 0.10	0.65 ± 0.26
Eosinophil	(%)	1.6 ± 0.8	1.5 ± 0.7	1.5 ± 0.3
	($\times 10^3/\mu L$)	0.09 ± 0.05	0.09 ± 0.03	0.12 ± 0.02
Basophil	(%)	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
	($\times 10^3/\mu L$)	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01
Lymphocyte	(%)	89.1 ± 2.7	87.0 ± 3.7	86.6 ± 2.2
	($\times 10^3/\mu L$)	4.98 ± 0.60	5.72 ± 2.00	7.04 ± 1.25*
Monocyte	(%)	2.4 ± 1.0	2.9 ± 1.2	3.9 ± 1.9
	($\times 10^3/\mu L$)	0.13 ± 0.06	0.18 ± 0.06	0.30 ± 0.11*

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 11. Serum biochemistry data for male Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
No. of animals examined		5	5	5
TP	(g/dL)	5.30 ± 0.27	5.48 ± 0.28	5.48 ± 0.16
A/G		4.12 ± 0.62	4.02 ± 0.34	3.74 ± 0.21
ALB	(g/dL)	4.24 ± 0.17	4.38 ± 0.19	4.32 ± 0.08
T-BIL	(mg/dL)	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01
GLU	(mg/dL)	72.8 ± 11.5	66.6 ± 7.8	70.4 ± 19.8
TG	(mg/dL)	60.6 ± 24.1	52.4 ± 14.1	58.8 ± 19.0
T-CHO	(mg/dL)	85.8 ± 12.4	76.4 ± 18.4	76.0 ± 6.2
BUN	(mg/dL)	9.7 ± 1.5	10.2 ± 1.9	9.8 ± 1.5
CRE	(mg/dL)	0.23 ± 0.00	0.21 ± 0.01	0.22 ± 0.02
Na	(mEQ/L)	141.6 ± 1.1	140.8 ± 0.4	141.0 ± 1.2
Cl	(mEQ/L)	103.8 ± 0.8	103.0 ± 1.9	102.6 ± 1.3
K	(mEQ/L)	5.08 ± 0.28	5.00 ± 0.32	4.90 ± 0.23
Ca	(mg/dL)	10.16 ± 0.09	10.26 ± 0.27	10.42 ± 0.23*
IP	(mg/dL)	9.12 ± 0.15	9.30 ± 0.41	9.78 ± 0.33**
AST	(IU/L)	129.0 ± 10.9	131.0 ± 25.8	136.0 ± 10.1
ALT	(IU/L)	35.0 ± 4.7	39.0 ± 3.0	38.6 ± 2.1
ALP	(IU/L)	352.4 ± 24.0	343.2 ± 30.4	328.2 ± 53.4
γ-GTP	(IU/L)	<3	<3	<3

Values are means ± SDs.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and 0.01, respectively.

Table 12. Serum biochemistry data for female Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
No. of animals examined		5	5	5
TP	(g/dL)	5.48 ± 0.18	5.54 ± 0.19	5.48 ± 0.18
A/G		4.40 ± 0.56	4.46 ± 0.44	4.24 ± 0.50
ALB	(g/dL)	4.46 ± 0.23	4.52 ± 0.13	4.42 ± 0.08
T-BIL	(mg/dL)	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01
GLU	(mg/dL)	72.4 ± 6.2	78.8 ± 5.2	81.4 ± 4.0*
TG	(mg/dL)	31.2 ± 7.7	36.2 ± 11.7	22.6 ± 9.4
T-CHO	(mg/dL)	63.2 ± 4.4	73.4 ± 18.3	64.6 ± 5.9
BUN	(mg/dL)	12.1 ± 4.0	10.2 ± 1.6	11.8 ± 2.3
CRE	(mg/dL)	0.25 ± 0.02	0.27 ± 0.01	0.27 ± 0.03
Na	(mEQ/L)	138.8 ± 0.4	138.6 ± 0.5	139.4 ± 0.5
Cl	(mEQ/L)	103.2 ± 1.3	103.8 ± 0.8	105.0 ± 1.0*
K	(mEQ/L)	4.86 ± 0.11	4.78 ± 0.20	4.64 ± 0.17*
Ca	(mg/dL)	10.22 ± 0.35	10.22 ± 0.23	10.08 ± 0.22
IP	(mg/dL)	8.50 ± 0.66	8.42 ± 0.47	8.22 ± 0.80
AST	(IU/L)	121.6 ± 15.9	104.4 ± 19.5	120.0 ± 14.1
ALT	(IU/L)	33.8 ± 5.5	26.0 ± 5.8	31.2 ± 2.6
ALP	(IU/L)	192.0 ± 32.2	192.6 ± 47.8	232.8 ± 20.8*
γ-GTP	(IU/L)	<3	<3	<3

Values are means ± SDs.

*: Significantly different from the control at $p < 0.05$.

Table 13. Organ weight data for male Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
No. of animals examined		5	5	5
Body weight	(g)	206.5 ± 8.2	210.5 ± 12.7	213.4 ± 13.2
Liver	(g)	6.34 ± 0.05	6.71 ± 0.67	6.52 ± 0.32
	(g/100gBW)	3.08 ± 0.12	3.18 ± 0.17	3.06 ± 0.06
Kidneys	(g)	1.79 ± 0.08	1.88 ± 0.32	1.84 ± 0.10
	(g/100gBW)	0.86 ± 0.02	0.89 ± 0.11	0.86 ± 0.03
Brain	(g)	1.78 ± 0.03	1.87 ± 0.08	1.87 ± 0.09
	(g/100gBW)	0.86 ± 0.04	0.89 ± 0.05	0.88 ± 0.07
Thymus	(g)	0.59 ± 0.08	0.64 ± 0.14	0.66 ± 0.14
	(g/100gBW)	0.29 ± 0.04	0.30 ± 0.05	0.31 ± 0.05
Heart	(g)	0.85 ± 0.03	0.87 ± 0.07	0.83 ± 0.06
	(g/100gBW)	0.41 ± 0.03	0.41 ± 0.02	0.39 ± 0.02
Lungs	(g)	0.98 ± 0.10	1.02 ± 0.09	0.99 ± 0.08
	(g/100gBW)	0.47 ± 0.04	0.48 ± 0.03	0.47 ± 0.01
Spleen	(g)	0.62 ± 0.03	0.53 ± 0.09	0.52 ± 0.10
	(g/100gBW)	0.30 ± 0.01	0.25 ± 0.03	0.25 ± 0.05
Adrenals	(g)	0.042 ± 0.005	0.040 ± 0.004	0.041 ± 0.004
	(mg/100gBW)	20.10 ± 2.01	18.80 ± 1.49	19.03 ± 1.93
Testes	(g)	2.15 ± 0.12	2.13 ± 0.09	2.10 ± 0.28
	(g/100gBW)	1.04 ± 0.04	1.02 ± 0.09	0.99 ± 0.14
Pituitary	(g)	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001
	(mg/100gBW)	4.53 ± 0.62	4.25 ± 0.37	4.40 ± 0.32
Thyroid	(g)	0.018 ± 0.002	0.017 ± 0.002	0.017 ± 0.005
	(mg/100gBW)	8.71 ± 0.85	7.84 ± 0.74	8.13 ± 2.31
Salivary gland	(g)	0.43 ± 0.04	0.46 ± 0.04	0.43 ± 0.02
	(g/100gBW)	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.01	0.20 ± 0.01
Seminal vesicle	(g)	0.34 ± 0.03	0.31 ± 0.06	0.33 ± 0.07
	(g/100gBW)	0.17 ± 0.01	0.15 ± 0.03	0.16 ± 0.03
Prostate	(g)	0.39 ± 0.05	0.35 ± 0.07	0.39 ± 0.04
	(g/100gBW)	0.19 ± 0.02	0.16 ± 0.04	0.18 ± 0.03

Values are means ± SDs.

Table 14. Organ weight data for female Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
No. of animals examined		5	5	5
Body weight	(g)	178.5 ± 13.0	180.2 ± 6.2	177.8 ± 6.4
Liver	(g)	5.54 ± 0.65	5.95 ± 0.53	5.44 ± 0.30
	(g/100gBW)	3.10 ± 0.21	3.30 ± 0.23	3.07 ± 0.23
Kidneys	(g)	1.56 ± 0.14	1.52 ± 0.12	1.50 ± 0.07
	(g/100gBW)	0.88 ± 0.05	0.84 ± 0.05	0.84 ± 0.03
Brain	(g)	1.76 ± 0.08	1.78 ± 0.05	1.78 ± 0.08
	(g/100gBW)	0.99 ± 0.06	0.99 ± 0.04	1.00 ± 0.08
Thymus	(g)	0.51 ± 0.05	0.53 ± 0.08	0.56 ± 0.03
	(g/100gBW)	0.29 ± 0.04	0.30 ± 0.05	0.32 ± 0.02
Heart	(g)	0.72 ± 0.09	0.73 ± 0.06	0.70 ± 0.03
	(g/100gBW)	0.40 ± 0.02	0.41 ± 0.03	0.40 ± 0.02
Lungs	(g)	0.90 ± 0.09	0.87 ± 0.07	0.92 ± 0.03
	(g/100gBW)	0.50 ± 0.02	0.49 ± 0.04	0.52 ± 0.02
Spleen	(g)	0.42 ± 0.08	0.42 ± 0.06	0.43 ± 0.05
	(g/100gBW)	0.24 ± 0.04	0.23 ± 0.03	0.24 ± 0.02
Adrenals	(g)	0.048 ± 0.009	0.052 ± 0.010	0.054 ± 0.006
	(mg/100gBW)	26.97 ± 3.65	28.97 ± 4.73	30.46 ± 3.60
Ovaries	(g)	0.069 ± 0.015	0.073 ± 0.010	0.074 ± 0.006
	(mg/100gBW)	38.44 ± 7.53	40.80 ± 5.41	41.76 ± 3.14
Pituitary	(g)	0.011 ± 0.001	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.002
	(mg/100gBW)	6.34 ± 0.40	6.70 ± 0.83	6.87 ± 0.76
Thyroid	(g)	0.018 ± 0.001	0.019 ± 0.003	0.019 ± 0.001
	(mg/100gBW)	10.17 ± 1.06	10.64 ± 1.43	10.77 ± 0.69
Salivary gland	(g)	0.40 ± 0.04	0.36 ± 0.02	0.36 ± 0.02
	(g/100gBW)	0.22 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.01

Values are means ± SDs.

Table 15. Histopathological findings for male Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
	No. of animals examined	5	5	5
Organs	Findings			
Jejunum	No abnormalities detected	5	4	5
	Diverticulum (P)	-	1	-
Thyroid	No abnormalities detected	3	4	5
	Ectopic tissue, thymus (P)	1	1	-
	Ultimobranchial cyst (P)	1	-	-
Pituitary	No abnormalities detected	4	4	4
	Cyst (P)	1	-	-
	Aberrant craniopharyngeal structures (P)	-	1	1

Values are No. of animals.
P: Present

Table 16. Histopathological findings for female Crl:CD (SD) rats treated with compound Y and Z for 7 days

		Control	Compound Y	Compound Z
	No. of animals examined	5	5	5
Organs	Findings			
Thyroid	No abnormalities detected	4	2	1
	Ectopic tissue, thymus (P)	1	-	1
	Ultimobranchial cyst (P)	-	3	3

Values are No. of animals.
P: Present

Ⅱ．分担研究報告書

(6)原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究

(6-2)プベルル酸の遺伝毒性試験

研究分担者　平林　容子

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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 その手法開発のための研究

分担研究報告書

(6)原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究 (6-2)プベルル酸の遺伝毒性試験

研究分担者　平林容子　国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター

研究要旨

紅麹菌を用いて製造されたいわゆる健康食品による腎障害等の健康被害を起こした事例について、原因物質の一つとされるプベルル酸の突然変異誘発能の有無を明らかにするため、細菌を用いる復帰突然試験（Ames 試験）と遺伝子改変げっ歯類（MutaMouse）を用いた遺伝子突然変異試験（TGR 試験）を実施した。Ames 試験については、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての菌株においても復帰変異コロニー数の増加が認められ、代謝活性化しない場合の *E. coli* WP2 *uvrA* を除く菌株において、陰性対照値の 2 倍以上となる用量依存的な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

TGR 試験については、既存の試験結果から明確な性差が確認されていることから、本試験においては雌のみを使用した。用量設定試験から最大耐量付近と考えられた 5.00 mg/kg/day を最高用量として、以下、2.50, 1.25 および 0.625 mg/kg/day の計 4 用量を設定した。各群雌 6 匹(2.50 mg/kg/day 群のみ 8 匹)に 1 日 1 回、28 日間連続強制経口投与した。最終投与後 3 日に全例から腺胃および腎臓を摘出し、lacZ assay により遺伝子突然変異体頻度を算出した。その結果，プベルル酸投与群の腺胃および腎臓のいずれにおいても陰性対照群と比較して遺伝子突然変異体頻度の統計学的に有意な増加は認められなかった。陽性対照の N-エチル-N-ニトロソウレア(ENU, 投与量 100 mg/kg/day, 腹腔内投与, 1 日 1 回 2 日間)投与群においては、腺胃および腎臓ともに陰性対照群と比較して統計学的に有意な遺伝子突然変異体頻度の増加が認められたことから、当該試験は適切に実施されたと判断した。以上の結果から、当該試験条件下において、プベルル酸は遺伝子改変げっ歯類の腺胃および腎臓に対して遺伝子突然変異誘発性を示さないもの(陰性)と判定された。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

出水 庸介、豊田 武士、杉山 圭一、花尻（木倉）瑠理

A. 研究目的

紅麹菌を用いて製造されたいわゆる健康食品によって腎障害等の健康被害が生じた事例について、国民の不安が募っている。本研究においては、原因物質の一つとされたプベルル

酸について、遺伝子突然変異誘発能の有無を明らかにするため、細菌を用いる復帰突然試験（Ames 試験）と遺伝子改変げっ歯類（MutaMouse）を用いた遺伝子突然変異試験（TGR 試験）を行う。

B. 研究方法

1.プベルル酸の Ames 試験

プベルル酸（Puberulic acid; CAS no. 99-23-0）の遺伝子突然変異誘発能の有無を明らかにするため、ネズミチフス 菌 *Salmonella typhimurium*（以下、*S. typhimurium* と略す）TA100、TA1535、TA98、TA1537 及び大腸菌 *Escherichia coli*（以下、*E. coli* と略す）WP2 *uvrA* を用いて、代謝活性化する場合及び代謝活性化しない場合の条件下で、プレインキュベーション法により実施した。なお、被験物質（国立医薬品食品衛生研究所　有機化学部にて合成：Lot no. 20240529、純度 98.78%）の溶媒にはジメチルスルホキシド（DMSO）を用いた。参考にしたガイドラインは、

・「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成 23 年 3 月 31 日：薬食発 0331 第 7 号、平成 23･03･29 製局第 5 号、環保企発第 110331009 号）

・「OECD Guideline for Testing of Chemicals 471: Bacterial Reverse Mutation Test」（OECD：2020 年 6 月 26 日）

である。

なお、Ames 試験は外部委託し、医薬品開発業務受託機関（CRO）が実施した。

2. プベルル酸の TGR 試験

プベルル酸の生体における遺伝子突然変異誘発能の有無について検討するため、遺伝子改変げっ歯類（MutaMouse）を用い、標的器官におけるレポーター遺伝子（lacZ）に対する遺伝子突然変異誘発性を検討した。被験物質（国立医薬品食品衛生研究所　有機化学部にて合成：Lot no. 20240904、純度 98.5%）の溶媒には 0.5 w/v%メチルセルロース水溶液を用いた。用量設定試験には MutaMouse の親動物である CD2F1 マウスを使用した。本試験の試験用量を設定するため、100 mg/kg/day を最高用量とし、公比約 3 で除した 30.0, 10.0 および 3.00 mg/kg/day の計 4 用量を設定し、CD2F1 マウスの雌雄に、1 日 1 回、14 日間反復強制経口投与した。

用量設定試験結果から顕著な性差は認められなかったものの国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 病理部で実施したラットを用いた 28 日間反復投与試験において、腎毒性に明確な性差が確認されていた。そのため本試験においては雌のみを使用することとし、用量設定試験結果から最大耐量付近と考えられる 5.00 mg/kg/day を最高用量として以下、2.50、1.25 および 0.625 mg/kg/day の計 4 用量を設定した。各群雌 6 匹（2.50 mg/kg/day 群のみ 8 匹）に 1 日 1 回、28 日間連続強制経口投与した。1.25, 2.50 および 5.00 mg/kg/day の 3 用量の腺胃および腎臓について, lacZ assay により遺伝子突然変異体頻度を算出した。

本試験の実施においては、下記二つのガイドラインを参考とし、外部委託によって CRO が実施した。

・「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」（平成 23 年 3 月 31 日付け、薬食発 0331 第 8 号厚生労働省医薬食品局長、平成 23・03・29 製局第 6 号経済産業省製造産業局長、環保企発第 110331010 号環境省総合環境政策局長通知）

・ OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 488 (30 June 2022: Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays)

C. 研究結果及び考察

１．プベルル酸の Ames 試験

本試験の試験用量を設定するため 5000、1250、313、78.1、19.5、4.88 及び 1.22 μg/plate で用量設定試験を実施した。用量設定試験の結果、本被験物質によるプレート上の沈殿は、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの用量においても認められなかった。菌に対する生育阻害は、代謝活性化しない場合の *S. typhimurium* TA1535 及び TA1537 の 1250 μg/plate 以上、代謝活性化しない場合の *S. typhimurium* TA100、TA98、*E. coli* WP2 *uvrA* 及び代謝活性化した場合のすべての菌株の 5000 μg/plate の用量で認められた。本被験物質による復帰変異コロニー数は、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての菌株において増加が認められ、代謝活性化しない場合の *E. coli* WP2 *uvrA* を除く菌株において、陰性対照値の 2 倍以上となる用量依存的な復帰変異コロニー数の増加が認められた。無菌試験では、最高用量の被験液及び S9 Mix に雑菌の生育は認められなかった。用量設定試験の結果に基づき本試験の用量は、代謝活性化の有無にかかわらず *S. typhimurium* TA 株及び代謝活性化する場合の *E. coli* WP2 *uvrA* においては、復帰変異コロニー数の増加が認められたため、本試験では最大比活性化が得られるよう代謝活性化しない場合の *S. typhimurium* TA1535、TA1537 においては 5000 μg/plate を最高用量として以下公比 2 で除した 2500、1250、625、313、156、78.1 及び 39.1 μg/plate の計 8 用量、代謝活性化しない場合の TA98、TA100 及び代謝活性化する場合のすべての菌株においては 5000 μg/plate を最高用量として以下公比 2 で除した 2500、1250、625、313 及び 156 μg/plate の計 6 用量の被験物質処理用量を設定した。代謝活性化しない場合の *E. coli* WP2 *uvrA* においては、復帰変異コロニー数の増加が認められるものの陰性対照値の 2 倍以上の増加は認められなかったため、生育阻害の認められた最低用量の 5000 μg/plate を最高用量として以下公比 2 で除した 2500、1250、625、313 及び 156 μg/plate の計 6 用量の被験物質処理用量を設定した（表 1）。

本試験における本被験物質によるプレート上の沈殿は、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの 用量においても認められなかった。菌に対する生育阻害は、代謝活性化しない場合の *S. typhimurium* TA1535 及び TA1537 の 1250 μg/plate 以上、代謝活性化しない場合の *S. typhimurium* TA100、TA98、*E. coli* WP2 *uvrA* 及び代謝活性化した場合のすべての菌株の 5000 μg/plate の用量で認められた。本被験物質による復帰変異コロニー数は、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての菌株において増加が認められ、代謝活性化しない場合の *E. coli* WP2 *uvrA* を除く菌株において、陰性対照値の 2 倍以上となる用量依存的な復帰変異コロニー数の増加が認められた。無菌試験では、最高用量の被験液及び S9 Mix に雑菌の生育は認められなかった（表 2）。

2. プベルル酸の TGR 試験

2-1. 用量設定試験結果および本試験における一般状態

用量設定試験の結果、雌雄の 100 mg/kg/day 群では Day 3 もしくは Day 4、雌雄の 30.0 mg/kg/day 群では、Day 7 もしくは Day 8 に全例の死亡もしくは瀕死が認められた。これらの死亡もしくは瀕死個体では、自発運動低下、腹臥位、呼吸不整、体温低下もしくは顕著な体重減少が認められた。10.0 mg/kg/day 群では、雌性の 1 例において、痩せが認められ、雌雄の全例において、顕著な体重減少が認められた。3.00 mg/kg/day 群では、雌雄ともに一般状態の変化および顕著な体重減少は認められなかった。Day 15 の剖検時、雌雄の 10.0 mg/kg/day 群において、腎臓の腫大、淡色化が認められた。3.00 mg/kg/day 群では、雌雄とも特筆すべき変化は認められな

かった（表 3）。

本試験においては、いずれの被験物質投与群においても一般状態および体重推移に変化は認められなかった（表 4）。剖検時、5.00 mg/kg/day 群の 1/6 例において、腎臓の淡色化が認められた。その他の投与群においては特筆すべき変化は認められなかった。すべての投与群において、評価数 5 匹を確保することができたため、腺胃および腎臓からゲノム DNA を抽出し、1.25、2.50 および 5.00 mg/kg/day の 3 用量について、*lacZ* assay による遺伝子突然変異頻度体評価対象とした。

2-2. 腺胃における *lacZ assay* 結果

結果を表 5 に示す。陰性対照群での突然変異体頻度の平均値±SD は、26.8±5.3（$\times 10^{-6}$）であった。プベルル酸投与群での突然変異体頻度の平均値±SD は、1.25、2.50 および 5.00 mg/kg/day 群で、それぞれ 32.7±7.6（$\times 10^{-6}$）、32.5±7.0（$\times 10^{-6}$）および 35.5±14.6（$\times 10^{-6}$）であり、陰性対照群と比較し統計学的に有意な差は認められなかった。また陽性対照群における突然変異体頻度の平均値±SD は、472.3±71.8（$\times 10^{-6}$）であり、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

2-3. 腎臓における *lacZ assay* 結果

結果を表 6 に示す。陰性対照群での突然変異体頻度の平均値±SD は、30.0±7.5（$\times 10^{-6}$）であった。プベルル酸投与群での突然変異体頻度の平均値±SD は、1.25、2.50 および 5.00 mg/kg/day 群で、それぞれ 35.0±11.8（$\times 10^{-6}$）, 48.8±37.0（$\times 10^{-6}$）および 38.1±10.1（$\times 10^{-6}$）であり、陰性対照群と比較し統計学的に有意な差は認められなかった。動物番号 3303 における突然変異体頻度は，114.5 $\times 10^{-6}$ と高値を示したが、他の動物では突然変異体頻度の増加傾向は認められなかった。陽性対照群における突然変異体頻度の平均値±SD は、127.1±41.3（$\times 10^{-6}$）であり、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

D. 結論

1．プベルル酸の Ames 試験

用量設定試験及び本試験共に、本被験物質は、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての菌株においても復帰変異コロニー数の増加が認められ、代謝活性化しない場合の *E. coli* WP2 *uvrA* を除く菌株において、陰性対照値の 2 倍以上となる用量依存的な復帰変異コロニー数の増加は認められた。なお、最大比活性値は、用量設定試験の代謝活性化しない場合の *S. typhimurium* TA100 の 1250 μg/plate における 2.78×10^{2}（Revertant /mg）であった。一方、陽性対照群では陰性対照群と比較して 2 倍以上となる復帰変異コロニー数の増加を示したことから、使用菌株の復帰突然変異誘発物質に対する反応は適切であったことが確認され、試験は適切に実施されたものと考えられた。

以上の試験結果より、本試験条件下において プベルル酸は、細菌に対する遺伝子突然変異誘発能を有する（陽性）と判定した（表 1, 2）。

2. プベルル酸の TGR 試験

プベルル酸の生体における遺伝子突然変異誘発能の有無について検討するため、遺伝子改変げっ歯類（MutaMouse）を用い、標的器官での遺伝子突然変異誘発性を評価した。5.00，2.50 および 1.25 mg/kg/day の 3 用量の腺胃および腎臓について，*lacZ assay* による遺伝子突然変異体頻度を算出した。その結果，プベルル酸投与群の腺胃および腎臓のいずれにおいても陰性対照群と比較して遺伝子突然変異体頻度の統計学的に有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照の ENU 投与群では、腺胃および腎臓ともに陰性対照群と比較して統計学的に有意な遺伝子突然変異体

頻度の増加が認められたことから、当該試験は適切に実施されたと判断した。

以上の結果から、当該試験条件下において、プベルル酸はトランスジェニックマウスの腺胃および腎臓に対して遺伝子突然変異誘発性を示さないもの（陰性）と判定された。

E. 参考文献

該当無し

F.研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

表 1 Ames 用量設定試験結果

被験物質の名称：プベルル酸（CAS RN 99-23-0）

代謝活性化系の有無		被験物質の用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	復帰変異数（コロニー数/プレート）				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S9Mix（－）		陰性対照（DMSO）	118 117 （ 118 ）	7 7 （ 7 ）	30 28 （ 29 ）	19 22 （ 21 ）	10 7 （ 9 ）
		1.22	130 110 （ 120 ）	10 3 （ 7 ）	28 32 （ 30 ）	22 19 （ 21 ）	8 5 （ 7 ）
		4.88	102 105 （ 104 ）	9 8 （ 9 ）	36 34 （ 35 ）	22 24 （ 23 ）	5 13 （ 9 ）
		19.5	106 127 （ 117 ）	11 7 （ 9 ）	32 31 （ 32 ）	15 18 （ 17 ）	6 6 （ 6 ）
		78.1	128 119 （ 124 ）	15 10 （ 13 ）	27 30 （ 29 ）	36 35 （ 36 ）	15 8 （ 12 ）
		313	196 179 （ 188 ）	28 22 （ 25 ）	32 27 （ 30 ）	52 26 （ 39 ）	13 17 （ 15 ）
		1250	453 479 （ 466 ）	60 ＊ 49 ＊（ 55 ）	50 48 （ 49 ）	63 79 （ 71 ）	35 ＊ 26 ＊（ 31 ）
		5000	462 ＊ 549 ＊（ 506 ）	10 ＊ 21 ＊（ 16 ）	5 ＊ 2 ＊（ 4 ）	202 ＊ 233 ＊（ 218 ）	50 ＊ 41 ＊（ 46 ）
S9Mix（＋）		陰性対照（DMSO）	122 129 （ 126 ）	9 14 （ 12 ）	23 27 （ 25 ）	26 31 （ 29 ）	13 6 （ 10 ）
		1.22	150 142 （ 146 ）	7 5 （ 6 ）	25 28 （ 27 ）	24 32 （ 28 ）	10 13 （ 12 ）
		4.88	152 129 （ 141 ）	5 5 （ 5 ）	39 20 （ 30 ）	24 34 （ 29 ）	7 5 （ 6 ）
		19.5	134 149 （ 142 ）	10 13 （ 12 ）	27 26 （ 27 ）	20 35 （ 28 ）	5 6 （ 6 ）
		78.1	153 163 （ 158 ）	14 11 （ 13 ）	33 24 （ 29 ）	35 33 （ 34 ）	14 9 （ 12 ）
		313	187 175 （ 181 ）	19 16 （ 18 ）	27 33 （ 30 ）	28 33 （ 31 ）	13 9 （ 11 ）
		1250	294 329 （ 312 ）	56 78 （ 67 ）	43 58 （ 51 ）	30 30 （ 30 ）	11 8 （ 10 ）
		5000	548 ＊ 453 ＊（ 501 ）	27 ＊ 19 ＊（ 23 ）	8 ＊ 7 ＊（ 8 ）	121 ＊ 109 ＊（ 115 ）	55 ＊ 42 ＊（ 49 ）
陽性対照	S9Mixを必要としないもの	名　称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2	ICR-191
		用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
		ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	710 693 （ 702 ）	211 206 （ 209 ）	101 133 （ 117 ）	479 500 （ 490 ）	1417 1444 （ 1431 ）
	S9Mixを必要とするもの	名　称	B[*a*]P	2AA	2AA	B[*a*]P	B[*a*]P
		用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
		ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	1171 1231 （ 1201 ）	245 233 （ 239 ）	710 667 （ 689 ）	293 290 （ 292 ）	96 67 （ 82 ）

（備考）

AF-2　：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SAZ　：アジ化ナトリウム

ICR-191　：2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2AA　：2-アミノアントラセン

B[*a*]P　：ベンゾ[*a*]ピレン

＊：被験物質による生育阻害が認められたことを示す。

（　　）内は、2枚のプレートの平均値を示す。

表 2 Ames 本試験結果

被験物質の名称：プベルル酸（CAS RN 99-23-0）

代謝活性化系の有無		被験物質の用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	復帰変異数（コロニー数/プレート）				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S9Mix（－）		陰性対照（DMSO）	139 152 (146)	9 10 (10)	27 29 (28)	16 24 (20)	10 8 (9)
		39.1	NT	10 9 (10)	NT	NT	14 10 (12)
		78.1	NT	17 14 (16)	NT	NT	5 10 (8)
		156	180 202 (191)	13 22 (18)	21 23 (22)	23 27 (25)	6 8 (7)
		313	202 216 (209)	34 20 (27)	39 27 (33)	28 40 (34)	9 11 (10)
		625	269 305 (287)	39 42 (41)	27 32 (30)	43 54 (49)	8 13 (11)
		1250	456 452 (454)	59 * 66 * (63)	34 28 (31)	78 67 (73)	34 * 32 * (33)
		2500	643 698 (671)	75 * 91 * (83)	54 37 (46)	120 126 (123)	51 * 41 * (46)
		5000	370 * 578 * (474)	18 * 6 * (12)	6 * 1 * (4)	245 * 238 * (242)	50 * 51 * (51)
S9Mix（＋）		陰性対照（DMSO）	162 147 (155)	9 12 (11)	31 29 (30)	28 31 (30)	12 13 (13)
		156	176 179 (178)	18 22 (20)	35 36 (36)	33 32 (33)	8 8 (8)
		313	169 160 (165)	34 42 (38)	42 42 (42)	28 32 (30)	4 9 (7)
		625	216 223 (220)	43 51 (47)	42 38 (40)	25 42 (34)	11 8 (10)
		1250	299 344 (322)	76 91 (84)	53 67 (60)	31 43 (37)	11 17 (14)
		2500	457 524 (491)	96 116 (106)	53 54 (54)	63 64 (64)	22 25 (24)
		5000	447 * 498 * (473)	101 * 68 * (85)	5 * 0 * (3)	119 * 146 * (133)	54 * 44 * (49)
陽性対照	S9Mixを必要としないもの	名　称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2	ICR-191
		用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
		ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	576 557 (567)	267 295 (281)	86 98 (92)	461 461 (461)	1506 1628 (1567)
	S9Mixを必要とするもの	名　称	B[*a*]P	2AA	2AA	B[*a*]P	B[*a*]P
		用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
		ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	1048 1245 (1147)	222 207 (215)	736 779 (758)	300 300 (300)	78 84 (81)

（備考）

AF-2　：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SAZ　：アジ化ナトリウム

ICR-191　：2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2AA　：2-アミノアントラセン

B[*a*]P　：ベンゾ[*a*]ピレン

＊：被験物質による生育阻害が認められたことを示す。

NT：試験せず。

（　　）内は、2枚のプレートの平均値を示す。

表 3 MutaMouse を用いた遺伝子突然変異試験のための用量設定試験における臨床症状

Sex: Male	Observation Type: All Types	Day(s) Relative to Start Date																			
		1 BF	1 AF	2 BF	2 AF	3 BF	3 AF	4 BF	4 AF	5 BF	5 AF	6 BF	6 AF	7 BF	7 AF	8 BF	8 AF	9 BF	9 AF	10 BF	10 AF
3.00 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
10.0 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
30.0 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	.	.	.	.	.
	Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	.	.	.	.	.	.
	Prone position	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.
	Decrease in locomotor activity	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.
	Irregular respiration	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.
	Dead	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.
	Moribund	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.
100 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Normal	3	3	3	3	3	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Decrease in locomotor activity	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Irregular respiration	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Hypothermia	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Dead	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Moribund	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Sex: Male	Observation Type: All Types	Day(s) Relative to Start Date								
		11 BF	11 AF	12 BF	12 AF	13 BF	13 AF	14 BF	14 AF	15 BC
3.00 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	3
10.0 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	3
30.0 mg/kg/day	Animals Examined	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Normal	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Prone position	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Decrease in locomotor activity	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Irregular respiration	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Dead	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Moribund	.	.	.	.	.	.	.	.	.
100 mg/kg/day	Animals Examined	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Normal	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Decrease in locomotor activity	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Irregular respiration	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Hypothermia	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Dead	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Moribund	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Values = Specific Number of Animals Affected
.=Not Present
BF: Before administration
AF: After administration
BC: Before carrying out

Sex: Female	Observation Type: All Types	Day(s) Relative to Start Date																			
		1 BF	1 AF	2 BF	2 AF	3 BF	3 AF	4 BF	4 AF	5 BF	5 AF	6 BF	6 AF	7 BF	7 AF	8 BF	8 AF	9 BF	9 AF	10 BF	10 AF
3.00 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
10.0 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Emaciation	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
30.0 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	.	.	.	.	.	.	.
	Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	.	.	.	.	.	.	.	.
	Prone position	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.
	Decrease in locomotor activity	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.
	Irregular respiration	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.
	Dead	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.
	Moribund	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	.
100 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	2	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Normal	3	3	3	3	2	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Prone position	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Decrease in locomotor activity	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Irregular respiration	.	.	.	.	1	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Dead	.	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Moribund	.	.	.	.	1	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Sex: Female	Observation Type: All Types	Day(s) Relative to Start Date								
		11 BF	11 AF	12 BF	12 AF	13 BF	13 AF	14 BF	14 AF	15 BC
3.00 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	3
10.0 mg/kg/day	Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Normal	3	3	3	3	3	3	2	2	2
	Emaciation	.	.	.	.	.	.	1	1	1
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	3
30.0 mg/kg/day	Animals Examined	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Normal	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Prone position	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Decrease in locomotor activity	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Irregular respiration	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Dead	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Moribund	.	.	.	.	.	.	.	.	.
100 mg/kg/day	Animals Examined	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Normal	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Prone position	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Decrease in locomotor activity	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Irregular respiration	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Dead	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Moribund	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Values = Specific Number of Animals Affected
.=Not Present
BF: Before administration
AF: After administration
BC: Before carrying out

表 4 MutaMouse を用いた遺伝子突然変異試験の本試験における臨床症状

Sex: Female	Observation Type: All Types	Day(s) Relative to Start Date																			
		1 BF	1 AF	2 BF	2 AF	3 BF	3 AF	4 BF	4 AF	5 BF	5 AF	6 BF	6 AF	7 BF	7 AF	8 BF	8 AF	9 BF	9 AF	10 BF	10 AF
NC 0 mg/kg/day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0.625 mg/kg/day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1.25 mg/kg/day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
2.50 mg/kg/day	Animals Examined	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Normal	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
5.00 mg/kg /day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Sex: Female	Observation Type: All Types	Day(s) Relative to Start Date																			
		11 BF	11 AF	12 BF	12 AF	13 BF	13 AF	14 BF	14 AF	15 BF	15 AF	16 BF	16 AF	17 BF	17 AF	18 BF	18 AF	19 BF	19 AF	20 BF	20 AF
NC 0 mg/kg/day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0.625 mg/kg/day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1.25 mg/kg/day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
2.50 mg/kg/day	Animals Examined	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Normal	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
5.00 mg/kg /day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Sex: Female	Observation Type: All Types	Day(s) Relative to Start Date																			
		21 BF	21 AF	22 BF	22 AF	23 BF	23 AF	24 BF	24 AF	25 BF	25 AF	26 BF	26 AF	27 BF	27 AF	28 BF	28 AF	29 MP	30 MP	31 MP	
NC 0 mg/kg/day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6	
0.625 mg/kg/day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6	
1.25 mg/kg/day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6	
2.50 mg/kg/day	Animals Examined	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
	Normal	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	8	
5.00 mg/kg /day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6	

Sex: Female	Observation Type: All Types	Day(s) Relative to Start Date													
		1 BF	2 BF	2 AF	3 BF	3 AF	4 MP	5 MP	6 MP	7 MP	8 MP	9 MP	10 MP	11 MP	12 MP	13 MP
PC 100 mg/kg/day	Animals Examined	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	Sacrificed	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6

Values = Specific Number of Animals Affected
.=Not Present
PC: Positive Control
BF: Before administration
AF: After administration
MP: Manifestation period

表 5 MutaMouse を用いた遺伝子突然変異試験の腺胃における *lacZ assay* 結果

Substance	Dose (mg/kg/day, p.o.)	Animal ID No.	Number of plaque forming units	Number of packagings	Number of mutants	Mutant frequency ($\times 10^{-6}$)	Group Mean ± S.D. ($\times 10^{-6}$)	
0.5% MC	0	3001	330,300	1	7	21.2		
		3002	591,300	1	18	30.4		
		3003	807,300	1	18	22.3	26.8 ± 5.3	
		3004	607,500	1	16	26.3		
		3005	856,800	1	29	33.8		
Puberulic acid	1.25	3201	728,100	1	24	33.0		
		3202	1,125,000	1	44	39.1		
		3203	655,200	1	16	24.4	32.7 ± 7.6	
		3204	1,124,100	1	29	25.8		
		3205	1,280,700	1	53	41.4		
	2.50	3301	1,297,800	1	47	36.2		
		3302	634,500	1	15	23.6		
		3303	710,100	1	19	26.8	32.5 ± 7.0	
		3304	544,500	1	22	40.4		
		3305	706,500	1	25	35.4		
	5.00	3401	1,743,300	1	52	29.8		
		3402	1,804,500	1	103	57.1		
		3403	856,800	1	32	37.3	35.5 ± 14.6	
		3404	657,900	1	11	16.7		
		3405	899,100	1	33	36.7		
ENU	100	3501	1,057,500	1	463	437.8		
		3502	1,262,700	1	694	549.6		
		3503	1,284,300	1	662	515.5	472.3 ± 71.8	*(AW)
		3504	353,700	1	174	491.9		
		3505	608,400	1	223	366.5		

0.5% MC: Negative control (0.5 w/v% Methylcellulose solution, 10 mL/kg)
ENU: Positive control (*N*-ethyl-*N*-nitrosourea, 10 mL/kg, i.p., dose once a day, for 2 days, expression period; 10 days)
*: Significant difference from negative control ($p \leq 0.05$)
(AW): Aspin-Welch's *t* test

表 6 MutaMouse を用いた遺伝子突然変異試験の腎臓における *lacZ assay* 結果

Substance	Dose (mg/kg/day, p.o.)	Animal ID No.	Number of plaque forming units	Number of packagings	Number of mutants	Mutant frequency ($\times 10^{-6}$)	Group Mean ± S.D. ($\times 10^{-6}$)	
0.5% MC	0	3001	784,800	1	15	19.1		
		3002	1,080,900	1	35	32.4		
		3003	1,199,700	1	46	38.3	30.0 ± 7.5	
		3004	994,500	1	34	34.2		
		3005	954,900	1	25	26.2		
Puberulic acid	1.25	3201	1,162,800	1	24	20.6		
		3202	1,493,100	1	49	32.8		
		3203	1,147,500	1	46	40.1	35.0 ± 11.8	
		3204	2,002,500	1	59	29.5		
		3205	1,540,800	1	80	51.9		
	2.50	3301	1,746,000	1	67	38.4		
		3302	1,369,800	1	47	34.3		
		3303	1,292,400	1	148	114.5	48.8 ± 37.0	
		3304	681,300	1	18	26.4		
		3305	1,113,300	1	34	30.5		
	5.00	3401	906,300	1	24	26.5		
		3402	1,187,100	1	40	33.7		
		3403	1,076,400	1	57	53.0	38.1 ± 10.1	
		3404	963,000	1	41	42.6		
		3405	1,345,500	1	47	34.9		
ENU	100	3501	1,100,700	1	136	123.6		
		3502	1,359,000	1	267	196.5		
		3503	1,426,500	1	159	111.5	127.1 ± 41.3	*(AW)
		3504	1,111,500	1	131	117.9		
		3505	730,800	1	63	86.2		

0.5% MC: Negative control (0.5 w/v% Methylcellulose solution, 10 mL/kg)
ENU: Positive control (*N*-ethyl-*N*-nitrosourea, 10 mL/kg, i.p., dose once a day, for 2 days, expression period; 10 days)
*: Significant difference from negative control ($p \leq 0.05$)
(AW): Aspin-Welch's *t* test

Ⅱ．分担研究報告書

（7）紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究

（7-1）プベルル酸産生菌の性状及び紅麹製品への混入メカニズムの解析

研究分担者　伊藤　美千穂

令和6年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

（7）紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究
（7-1）プベルル酸産生菌の性状及び紅麹製品への混入メカニズムの解析

研究分担者　伊藤 美千穂　国立医薬品食品衛生研究所生薬部

研究要旨

2024 年 3 月下旬、紅麹を含む健康食品の摂取により健康被害が生じていることが、当該健康食品の製造元より公表され、国立衛研において健康被害の原因究明を実施した。健康被害の原因物質は *Penicillium* 属真菌が産生する二次代謝産物のプベルル酸（PA）であることが明らかとなったが、我々は、その PA 汚染の原因を解明するため、製造工場において PA 産生菌を探索した。その結果、PA 産生性を有する *Penicillium adametzioides* を分離した。本研究では、分離した *P. adametzioides* について、代謝物プロファイルを解析して分布実態を推定するための情報を得ること、及び紅麹の産生に用いる *Monascus pilosus* との共培養試験を実施してどのような培養環境で PA に汚染された紅麹が産生されるかを明らかにすることを目的とした。紅麹の製造工場から分離された *P. adametzioides* が米培地で産生する代謝物を解析した結果、PA が確認された。また、既知の3化合物の存在も確認された。千葉大学に保存されていた *P. adametzioides* の臨床分離株も米培地において同様の代謝物を産生したことから、PA とこれら 3 種の化合物の産生能を有する *P. adametzioides* が日本に分布している可能性が考えられた。*P. adametzioides* と *M. pilosus* の共培養試験は、紅麹培養品ロットの生産工程を踏まえ、*P. adametzioides* の混入経路として、前培養開始時、本培養開始時、本培養中、本培養後の 4 つの混入モデルを想定して実施した。その結果、前培養開始時混入モデル、本培養開始時混入モデルで pH が中性の米培地を用いた場合、及び本培養後混入モデルで乾燥を行わない紅麹米を用いた場合に *P. adametzioides* は、*M. pilosus* とともに米培地で生育し、PA を産生した。この結果より、工場に生息していた PA 産生性を有する *P. adametzioides* が紅麹培養品ロット生産のいずれかの工程で混入し、紅麹の PA 汚染の原因となったと考えられた。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所
　吉成知也

A. 研究目的

健康被害を生じた健康食品の原料である紅麹のプベルル酸（PA）汚染の原因を明らかにするために、2024 年 4 月に紅麹培養品ロットを生産していた製造工場において PA の産生菌を探索した。その結果、工場の様々な箇所の拭き取り検体から PA を生産する *Penicillium adametzioides* が分離された [1)]。この株が紅麹生産のいずれかの工程で混入し、紅麹の PA 汚染を引き起こした可能性が高いと考えられた。本研究の目的は、工場に生息していた *P. adametzioides* の代謝物プロファイルを解析し、その分布実態を推定する

ための情報を得ること、及び紅麹培養品ロットのPA 汚染に関与した可能性を調べるために、紅麹の生産に用いる *Monascus pilosus* と *P. adametzioides* の共培養試験を実施し、どのような培養環境において PA に汚染された紅麹が生産されるかを明らかにすることである。

B. 研究方法

1. 試薬及び器具

HPLC グレードのアセトニトリルと水、特級のトリフルオロ酢酸(TFA)、メタノール、酢酸、塩酸、酢酸エチル、スクロース、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノラウレートは富士フイルム和光純薬(株)から購入した。NMR 溶媒の重水素化ジメチルスルホキシド-d_6 及びクロロホルム-d は、メルクから購入した。精白米(日本産ジャポニカ米)は神奈川県内のスーパーマーケットから購入した。*M. pilosus* NBRC 4520 及び *P. adametzioides* 11-1 株は当該健康食品の製造元から、*P. adametzioides* IFM68223 は千葉大学真菌医学研究センターから入手した。

2. 機器

・HPLC: LC-20A シリーズ((株)島津製作所)
・質量分析器:Q Exactive Orbitrap ハイブリッド質量分析計及び Dionex UltiMate 3000 RSLC システム(Thermo Fisher Scientific)
・NMR:JNM-ECZ600(日本電子(株))

3. 胞子懸濁液の調製

M. pilosus NBRC 4520 及び *P. adametzioides* 11-1 株をそれぞれ米培地及びポテトデキストロース(PD)寒天培地で培養した。2 週間後、各培養物に 0.05%ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノラウレート水溶液 10 mL を加え、スクレーパーで胞子を回収した。胞子懸濁液をガーゼで濾過し、菌糸を除去した。胞子懸濁液の希釈系列液を調製し、PD 寒天培地に撒いた。4 日後、出現したコロニーを数え、コロニー形成単位(cfu)を測定した。各胞子懸濁液を 0.05%ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノラウレートで希釈し、*M. pilosus*(3.3×10^2 及び 3.3×10^3 cfu/μL)及び *P. adametzioides*(3.3 cfu/μL)の胞子懸濁液を調製した。

4. 液体米粉培地と米培地の調製、PA の抽出及び精製

液体米粉培地は、30 mL の精製水を入れた 100 mL 容三角フラスコに、1.5 g の精白米または紅麹米を粉砕したものを加え、オートクレーブ滅菌して調製した。米培地は、精白米(10 g)と精製水 3 mL を 100 mL 容三角フラスコに入れ、1.5 時間浸漬後、オートクレーブ滅菌して調製した。米培地から PA を抽出するために、75%メタノール 40 mL を加えてホモジナイズした。抽出液をろ紙でろ過し、ろ液 600 μL を 1.5 mL 容プラスチックチューブに分取し、遠心エバポレーターで乾固した。残渣を 300 μL の塩酸水溶液(1 mol/L)に懸濁し、懸濁液を 300 μL の酢酸エチルで 2 回抽出した。酢酸エチル層を蒸発乾固し、残渣を 1%酢酸を含む 30%アセトニトリル水溶液 150 μL に溶解した。遠心分離(12,000×g、5 分)後、上清 10 μL を HPLC 分析に供した。生成された PA の量は、10 g の精白米から調製した米培地あたりの量とした。

5. PA の分析条件

HPLC カラムは Triart C18 カラム(250 mm×4.6 mm、粒子径 5 μm、(株)ワイエムシー)を用いた。分離条件は以下である。移動相:A 溶媒 0.1% TFA を含む精製水－B 溶媒 アセトニトリル、カラムオーブン温度:40℃、グラジエント:溶媒 B の割合を 10%から 80%へ 25 分間で上昇させた後、5 分間溶媒 B を 80%で固定、流速:1.0 mL/分、検出:フォトダイオードアレイ検出器(190-500 nm の範囲に設定)。PA の定量のための検量線は、標準物質(0.03、0.1、0.3、1、3、10 μg)を注入し、358 nm で測定したピーク面積をプロットすることによって作成した。標準物質は、*P. adametzioides* 11-1 株の米培地培養物から精製し、精密質量解

析とNMR解析を行ったものを用いた[1)]。

6. *P. adametzioides* の代謝物の解析

P. adametzioides 11-1株を「4.」に記載の方法法で、10 の米培地(精白米 100 g 分)で培養した。培養液を75%メタノール 400 mL で抽出し、抽出液をろ紙でろ過した。ろ液をエバポレーターで蒸発乾固し、残渣を 30 mL の塩酸水溶液(1 mol/L)に懸濁した。この懸濁液を 30 mL の酢酸エチルで 3 回抽出した。酢酸エチル層を減圧乾固し、残渣を3 mLの75%メタノールに懸濁した。懸濁液を 3 等分し、それぞれを 0.1%TFA を含む精製水(20 mL)で平衡化した HF Mega BE-C18 (5 g)カートリッジ(Agilent Technologies)に供した。20 mL の精製水、10%アセトニトリル水溶液、25%アセトニトリル水溶液、50%アセトニトリル水溶液(いずれも0.1%TFAを含む)を用いて段階溶出を行った。PA 以外の 3 種の未同定の代謝物は、主に 50%アセトニトリル水溶液画分に回収された。各フラクションを減圧乾固した。50%アセトニトリル水溶液画分の残渣(70 mg)を、Triart C18 カラム(内径 250 mm×10 mm、粒子径 5 μm、(株)ワイエムシー)を用いて分取 HPLC に供した。0.1%TFA を含む 33%アセトニトリル水溶液によるアイソクラティック溶出(4.0 mL/min)による分離を行い、化合物 **1** (保持時間 8.0 分)、**2** (保持時間 9.4 分)、**3** (保持時間 14.4 分)を得た。それぞれの化合物について、精密質量解析と NMR 解析を行った。NMR 解析においては、^{1}H、^{13}C、^{13}C DEPT135、^{1}H-^{1}H COSY、HSQC、HMBC スペクトルを 25℃にて ^{1}H は 600 MHz、^{13}C は 151 MHz で取得した。

7. 共培養試験

7-1. 共培養試験モデル 1 の培養条件

M. pilosus と *P. adametzioides* の胞子懸濁液を液体米粉培地に添加し、25℃で 5 日間、200 rpm で振とう培養した。0.4 mL の培養液を、2 mL の水または塩酸(1%)と酢酸(0.68%)の混合溶液とともに米培地に接種した。25℃で 3 日間静置培養した後、各培養液に 1 mL の水を加え、培養を続けた。

7-2. 共培養試験モデル 2 の培養条件

M. pilosus の胞子(10^{6} cfu)を液体米粉培地に添加し、25℃で 5 日間、振とう培養(200 rpm)した。0.4 mL の培養液を、*P. adametzioides* の胞子(100 cfu)と共に米培地に接種した。さらに 2 mL の水または塩酸(1%)と酢酸(0.68%)の混合液を加えた。25℃で 3 日間静置培養した後、各培地に 1 mL の水を加え、培養を続けた。

7-3. 共培養試験モデル 3 及び 4 の培養条件

精白米(100 g)を 500 mL 容の三角フラスコに入れ、30 mL の水に 1.5 時間浸漬した後、オートクレーブ滅菌した。*M. pilosus* の胞子懸濁液(10^{6} cfu)と、塩酸(1%)と酢酸(0.68%)の混合液 20 mL を米培地に添加した。25℃で 14 日間静置培養した後、生成した紅麹米を 10 g ずつ、100 mL 容の三角フラスコに分注した。未処理、オートクレーブ処理、またはオートクレーブ処理後 90℃で 3 時間乾燥させた紅麹米に、*P. adametzioides* の胞子懸濁液(100 cfu)をそれぞれ加え、25℃で静置培養を行った。

C. 研究結果

1. *P. adametzioides* の代謝物の解析

製造工場から分離された *P. adametzioides* 3 株(S02-10、N08-12、S05-22)が米培地にて産生した代謝物の HPLC クロマトグラムを図 1A～C にそれぞれ示した。いずれの株のクロマトグラムにおいても、PA のピークの他に、未知化合物 **1**(保持時間 16.7 分)、**2**(保持時間 17.2 分)、**3**(保持時間 18.9 分)の 3 つのピークが認められた。千葉大学で保存されている *P. adametzioides* IFM68223 の代謝物のクロマトグラムにも、PA 及び化合物 **1**、**2**、及び **3** のピークが観察された(図 1D)。これらの菌株の特徴を明らかにするため、3 種の未同定の化合物の解析を行った。

P. adametzioides 11-1 株を精白米 100g から調製した米培地で 1 週間培養した。培養液の 75%メタノール抽出液を酢酸エチルを用いた液々抽

出、C18 カートリッジ、逆相 HPLC で精製し、PA (18 mg)、**1**(15 mg)、**2**(18 mg)、**3**(11 mg)を単離した。LC-Q TOF-MS を用いた精密質量解析及び NMR スペクトルから、**1**、**2**、**3** をそれぞれ aspergillusol A、lapatin A、glyantrypine と同定した。質量分析の結果を表 1、NMR スペクトルの解析結果及び各化合物の構造式を表 2～4 に示した。なお、いずれの化合物も既知であったことから、立体構造については解析を行わなかった。

2. 共培養試験

製造工場における紅麹米の生産工程の概要を図 2 にまとめた。前培養は、*M. pilosus* を液体紅麹米粉培地に接種し、振盪培養により行う。米を加えた本培養用のタンクを滅菌後、前培養液を接種し、紅麹を生産する。培養途中でサンプリングと加水を行う。本培養終了後、タンクを滅菌する。紅麹を乾燥後、粉砕し、袋詰めされて別の工場に出荷され、錠剤化される。この生産工程を踏まえ、*P. adametzioides* の混入経路として、前培養開始時、本培養開始時、本培養中、本培養後の 4 つを想定した。紅麹が PA に汚染される機構を明らかにするために、各経路を反映した 4 つのモデルを用いて *M. pilosus* と *P. adametzioides* の共培養試験を行った(図 2)。

第一に、前培養開始時の混入を想定したモデル(モデル 1)を検証した。*P. adametzioides* が *M. pilosus* の存在下で液体紅麹米粉培地中で生育できるかどうかを調べるため、*M. pilosus* と *P. adametzioides* の胞子懸濁液を同時に培地に添加し、生育を調べた。図 3B に示すように、液体紅麹米粉培地は暗赤色に濁っており、菌の増殖を目視で確認することは困難であった。そこで、白色の液体米粉培地を使用することとした。液体米粉培地中でかびが成長すると、培地中で色素が生成されたため、培地の色の変化で菌の増殖を見ることができた。100 cfu の *P. adametzioides* または 10^4 cfu の *M. pilosus* を接種した液体米粉培地は、カナリアイエローまたはローズピンクに変化した(図 3A ID: I 及び II)。100 cfu の *P. adametzioides* と 10^4 cfu の *M. pilosus* を同時に接種すると、培地はクロムイエローに変色した(図 3A ID: III)。10^6cfu の *M. pilosus* を接種した米粉培地は、*P. adametzioides* の接種の有無にかかわらず、ルビーレッドに変色した(図 3A ID: IV 及び V)。液体紅麹米粉培地に胞子懸濁液を接種した場合、培地の色は最初の濁った暗赤色から変化しなかった(図 3B)。次に、液体紅麹米粉培地における培養液を米培地に移し、いずれのかびが培養液中で優勢になっているかを調べた。紅麹の生産工程における本培養は、酸性化した米培地で行われていたため、米培地での試験は中性及び酸性の二条件下で行った。酸性米培地は、塩酸と酢酸の混合液(pH 0.5)を加えることで調製した。液体紅麹米粉培地における培養液を接種した中性米培地を図 3C に示す。*P. adametzioides* のみを含む培養液を加えると、米は *P. adametzioides* の緑色の胞子で覆われた(図 3C ID: I)。*M. pilosus* のみが生育した 2 種の培養液をそれぞれ接種すると、紅麹米が生産された(図 3C ID: II 及び IV)。4 種の共培養の培養液をそれぞれ接種したところ、*P. adametzioides* のみが生育し、*M. pilosus* の cfu に関係なく、米が緑色の胞子で覆われた(図 3C ID: III 及び V)。緑色の胞子で覆われたこれらの米培地からは、PA が検出された(図 4)。中性の米培地を用いて得られた結果とは対照的に、*P. adametzioide*s のみを接種した液体紅麹米粉培地の培養液を酸性米培地に接種した場合、*P. adametzioides* は生育できなかった(図 3D ID: I)。*P. adametzioides* とは異なり、*M. pilosus* は酸性米培地上で生育した(図 3D ID: II 及び IV)。4 種類の共培養の培養液をそれぞれ酸性米培地に添加したところ、9 日間の培養期間では *M. pilosus* のみが増殖した(図 3D ID: III 及び V)。培養を続けた結果、*P. adametzioides* が増殖し、紅麹米は緑色の胞子で覆われた(図 3E ID: III)。これらの培養物からは PA が検出された(図 5A 及び B)。また、緑色の胞子が部分的に付着した紅麹米(図 3E ID: V 左)からも PA が検出されたが、*P. adametzioides*

がわずかに生育した紅麹米(図 3E ID: V 右)からは PA は検出されなかった(図 5C 及び D)。なお、液体米粉培地による培養液を米培地に添加した結果、上述の液体紅麹米粉培地の結果と同様の結果が得られた(図 6)。

第二に、本培養開始時の混入を想定したモデル(モデル 2)を検証した。*P. adametzioides* が米培地中で *M. pilosus* とともに生育できるかを調べるため、液体米粉培地における *M. pilosus* の培養液と *P. adametzioides* の胞子懸濁液(100 cfu)を同時に米培地に接種し、生育を調べた。モデル 1 と同様に、米培地での培養は中性及び酸性条件下で行った。中性条件下では、*P. adametzioides* を 100 cfu 添加した米培地は 7 日目に緑色の胞子で覆われた(図 7A ID: I)。*M. pilosus* の培養液を接種した米培地では、紅麹米が産生された(図 7A ID: II)。共培養を行った米培地では、7 日目には両菌とも培地上で生育したが、14 日目には *P. adametzioides* の緑色の胞子が米培地を覆った(図 7A ID: III)。酸性条件下では、*P. adametzioides* の生育は 7 日目には見られなかったが(図 7B ID: I)、*M. pilosus* は培地上に菌糸を伸長させた(図 7B ID: II)。共培養を行った米培地では、*M. pilosus* の増殖のみが観察された(図 7B ID: III)。培養 14 日目の結果は 7 日目と同様であった。

第三に、本培養中の混入を想定したモデル(モデル 3)を検証した。本培養中のサンプリング時や加水時に米培地が *P. adametzioides* に汚染された可能性が考えられた。*P. adametzioides* の胞子懸濁液(100 cfu)を紅麹米に接種したところ、14 日間の培養期間中、*P. adametzioides* の増殖は観察されなかった(図 8A)。35 日間の培養後、*P. adametzioides* の菌糸が付着した米粒がわずかに認められた(図 8B)。

最後に、本培養後の混入を想定したモデル(モデル 4)を検証した。紅麹の生産工程では、本培養後、オートクレーブ滅菌、乾燥、粉砕、袋詰めされ、出荷まで保管される。本培養後に混入が起きた可能性を推測するため、オートクレーブ後に乾燥させた紅麹米に *P. adametzioides* (100 cfu)の胞子懸濁液を接種し、生育を調べた。14 日後、紅麹米上では *P. adametzioides* の増殖は観察されなかった(図 8C)。一方、オートクレーブ処理後に乾燥しなかった紅麹米に *P. adametzioides* を接種したところ、*P. adametzioides* の緑色の胞子が紅麹米を覆い(図 8D)、その培養物から PA(2.2～3.0 mg/10 g)が検出された。

D. 考察

PA に関する最初の報告は、1932 年にイギリスの研究グループによってなされた [2]。トウモロコシの病原菌の 1 種である *Penicillium puberulum* の培養物中に検出された組成式 $C_8H_6O_6$ で表される化合物が「プベルル酸」と名づけられた。その後の解析により、PA はトロポロンを基本骨格とする構造であることが明らかになったが、その生物活性についてはほとんど報告が無い。

P. adametzioides は、果実の腐敗を引き起こす環境菌として知られている。*P. adametzioides* の最初の記載は、1956 年に日本の研究者によって発表された論文にある [3]。その後、韓国、イタリア、パキスタンの研究者によって、ブドウやザクロなどの腐敗した果実から菌株が分離された。中国の研究グループは、海綿から分離した *P. adametzioides* AS-53 の代謝物を分析した [4]。その結果、lapatin A と glyantrypine の産生は認められたが、PA の生産は報告されていない。一方、千葉大学で保存されている *P. adametzioides* IFM 68223 は、2022 年に日本においてヒトの肺検体から分離された株であるが、製造工場から分離された株と同様に PA、aspergillusol A、lapatin A 及び glyantrypine を産生した。別途実施した分子系統解析の結果において、製造工場から分離された *P. adametzioides* 全株と IFM68223 は同一の分岐群に含まれた [1]。これらの結果より、工場からの分離株と IFM68223 と同一分岐群を形成し、PA を産生する *P. adametzioides* が日本に分布している可能性が考

えられた。

次に、紅麹における PA 汚染の仕組みを明らかにするため、共培養試験を行った。各試験では、*P. adametzioides*（100 cfu）をかび汚染のモデルとした。モデル 1 の結果では、*M. pilosus* と *P. adametzioides* を共培養した液体米粉培地の色が、*M. pilosus* のみを培養した培地の色と異なっていた。液体米粉培地又は液体紅麹米粉培地で共培養を行った試料を中性米培地に接種したところ、*P. adametzioides* が優勢となり、*M. pilosus* の生育は抑制された。これらの結果は、培地中の *P. adametzioides* の cfu が *M. pilosus* よりもはるかに少なかったとしても、*P. adametzioides* は液体米粉培地及び液体紅麹米粉培地中で *M. pilosus* とともに生育できることを示した。中性条件下で得られた結果とは対照的に、*P. adametzioides* は酸性米培地においては生育できなかったが、*M. pilosus* は生育した。一般に、*Penicillium* 属真菌や *Monascus* 属真菌は、中程度の酸性条件には耐えるが、酢酸を含む酸性溶液で培地の pH を下げると、*M. pilosus* は培地上で選択的に増殖することが報告されている[5]。紅麹生産工程における他の微生物による汚染は、*M. pilosus* のこの性質を利用することで防止されてきたと考えられる。一方で、液体紅麹米粉培地で共培養を行った検体を酸性米培地に接種した場合、紅麹米が *P. adametzioides* の緑色の胞子で覆われた（図 3E ID: III 及び V）。*M. pilosus* が酸性の米培地で生育することで、培地の pH が上昇した可能性がある。その後、生き残っていた *P. adametzioides* が *M. pilosus* の菌体の上から増殖し、PA を産生したと考えられる。

モデル 2 の結果では、*M. pilosus* が十分に増殖した培養液を加えた中性米培地に *P. adametzioides* を 100 cfu だけ接種したところ、*P. adametzioides* が米培地で優勢的に増殖した。中性米培地における *P. adametzioides* の増殖速度は、*M. pilosus* の増殖速度よりもはるかに大きかった。しかし、100 cfu の *P. adametzioides* を酸性の米培地に接種すると、*M. pilosus* の存在にかかわらず、*P. adametzioides* は増殖しなかった。この結果は、*M. pilosus* と比較して、*P. adametzioides* にとって酸性条件下での生存はかなり困難であることを示している。

モデル 3 の結果では、*P. adametzioides* を接種した未処理の紅麹において、*P. adametzioides* の胞子形成は 14 日間の培養では観察されなかった。35 日目において、*P. adametzioides* のわずかな菌糸成長が観察された。一方、オートクレーブ処理した紅麹においては、14 日後には *P. adametzioides* の緑色の胞子で覆われた。生きた *M. pilosus* は *P. adametzioides* の生育を阻害すると考えられた。

モデル 4 の結果では、*P. adametzioides* はオートクレーブ処理した紅麹米上で生育したが、オートクレーブ後に乾燥処理した紅麹米上では生育しなかった。このことは、*P. adametzioides* の生育には十分な水分が必要であることを示している。

E. 結論

本研究課題において、紅麹培養品ロットの製造工場から分離された *P. adametzioides* が産生する代謝物の解析と、*M. pilosus* との共培養試験を実施した。工場から分離された *P. adametzioides* と千葉大学の保存株の *P. adametzioides* の代謝物のパターンはほぼ同様であったことから、PA を産生する *P. adametzioides* が日本に分布している可能性が考えられた。共培養試験の結果においては、工場から分離された *P. adametzioides* は、複数の培養条件（前培養開始時混入モデル、本培養開始時混入モデルにて中性の米培地を行った場合及び本培養後混入モデルで乾燥を行わない紅麹米を用いた場合）において *M. pilosus* とともに米培地で生育し、PA を産生した。紅麹の製造工場では、本培養は大きなタンクで行われていた。タンク内の培養条件は、本実験で使用した小さな三角フラスコ内の培養条件とは大きく異なるため、*P. adametzioides* の混入経路を今回実施した

共培養試験の結果のみから特定することは困難である。しかし、本研究の結果から、紅麹における PA 汚染の原因が、紅麹の製造工場に生息していた *P. adametzioides* であること、及び紅麹の生産工程における *P. adametzioides* の混入は、前培養の開始から本培養後までのいずれかの時点で発生した可能性が明らかとなった。

F. 参考文献

1) Yoshinari T, Watanabe M, Aoki W, Tanaka S, Masumoto N, Ito M, Ohnishi T.: Mechanism of puberulic acid contamination in red yeast rice tablets that caused a serious food poisoning outbreak in Japan. Proc Jpn Acad Ser B. Accepted
2) Birkinshaw JH, Raistrick H.: Studies in the biochemistry of micro-organisms: Puberulic acid $C_8H_6O_6$ and an acid $C_8H_4O_6$, new products of the metabolism of glucose by *Penicillium puberulum* Bainier and *Penicillium aurantio-virens* Biourge. With an appendix on certain dihydroxybenzenedicarboxylic acids. Biochem. J. 26, 441–453 (1932)
3) Abe S.: Studies on the classification of the Penicillia. J. Gen. Appl. Microbiol. 2, 1–194 (1956)
4) Liu Y, Li XM, Meng LH, Jiang WL, Xu GM, Huang CG, Wang BG.: Bisthiodiketopiperazines and acorane sesquiterpenes produced by the marine-derived fungus *Penicillium adametzioides* AS-53 on different culture media. J. Nat. Prod. 78, 1294–1299 (2015)
5) Tarui S, Kadoya T, Tanabe N. inventor; Gunze Ltd, assignee.: Production of 'benikoji' using rice as raw material for producing koji. Japan patent JPH01171476A (1989)

G. 研究業績

1. 論文発表

1) Yoshinari T, Watanabe M, Aoki W, Tanaka S, Masumoto N, Ito M, Ohnishi T.: Mechanism of puberulic acid contamination in red yeast rice tablets that caused a serious food poisoning outbreak in Japan. Proc Jpn Acad Ser B. Accepted

2. 学会発表

1) 吉成知也：紅麹配合食品における健康被害事例の原因探索. 第 49 回カビ毒研究連絡会(2024.9)
2) 吉成知也：紅麹サプリメントによる健康被害の原因究明について. 令和6年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部衛生化学部会(2025.2)

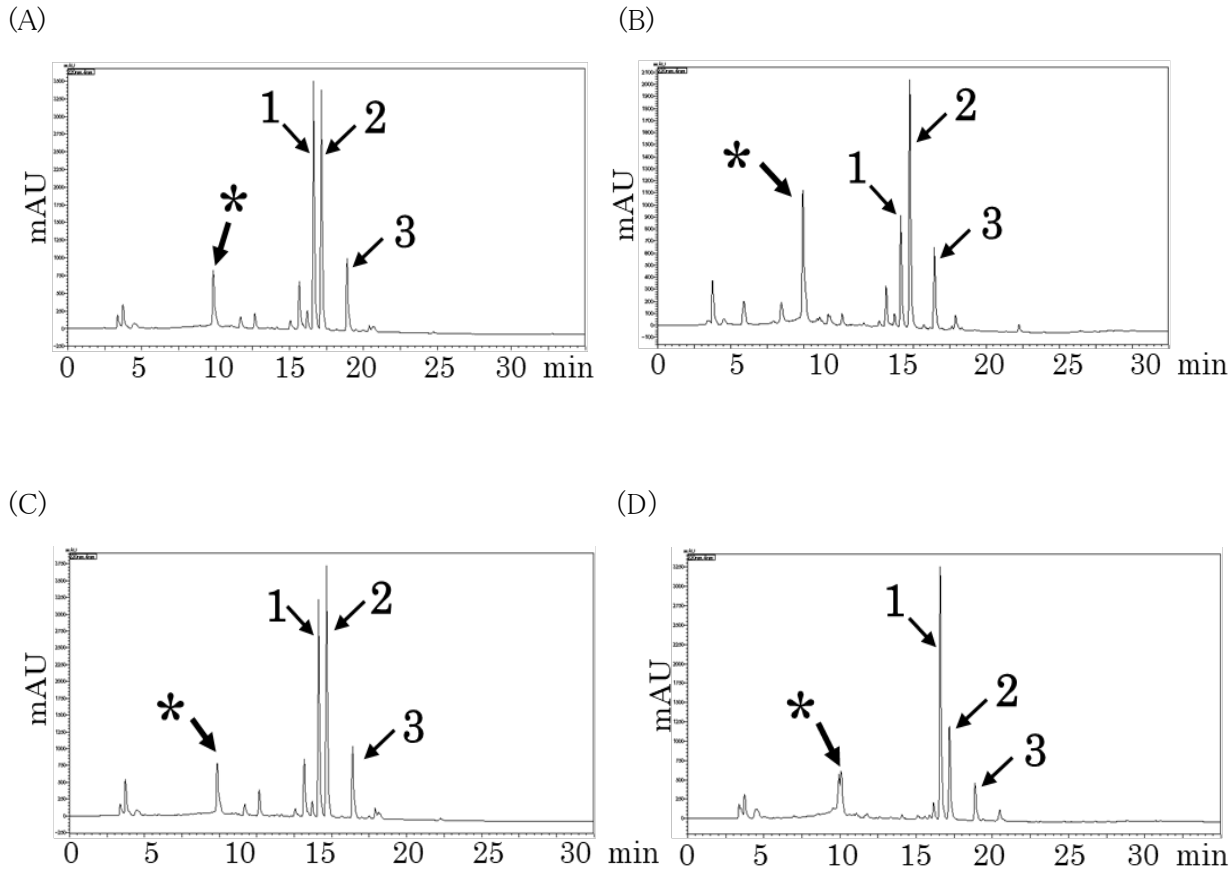


図 1 *Penicillium adametzioides* の米培地における代謝物の HPLC クロマトグラム（検出波長 220 nm）

（A）S2-10 株、（B）N08-12 株、（C）S05-22 株、（D）IFM68223

*：プベルル酸

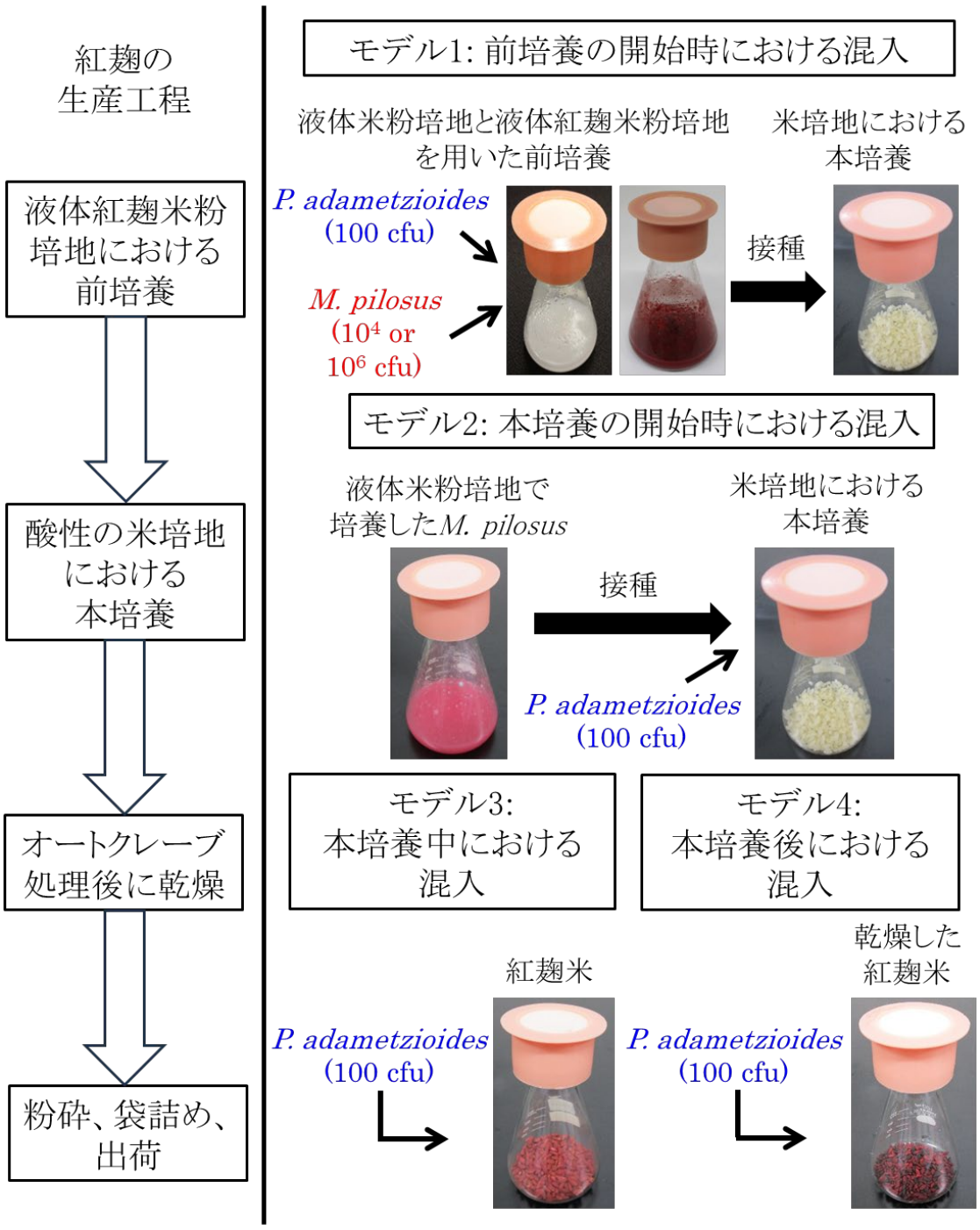


図 2　紅麹の生産工程と各工程を反映した混入モデル

紅麹は、左側に示した工程で生産された。この工程を基に、*Penicillium adametzioides* の4パターンの汚染経路を想定し、*Monascus pilosus* との共培養試験を行った。モデル 1 は、前培養の開始時における汚染を想定したもので、*M. pilosus* と *P. adametzioides* の胞子懸濁液を液体米粉培地と液体紅麹米粉培地に添加した。その後、本培養に使用した米培地に接種した。モデル 2 は、本培養の開始時における汚染を想定したもので、液体米粉培地で培養した *M. pilosus* の培養液を、*P. adametzioides* の胞子懸濁液とともに米培地に接種した。モデル 3 及び 4 は、それぞれ本培養中及び本培養後における汚染を想定したもので、*P. adametzioides* の胞子懸濁液を未処理及びオートクレーブ処理後に乾燥処理を行った紅麹米にそれぞれ接種した。

Sample ID	I	II	III	IV	V
P. adametzioides (cfu)	100	0	100	0	100
M. pilosus (cfu)	0	10^4	10^4	10^6	10^6

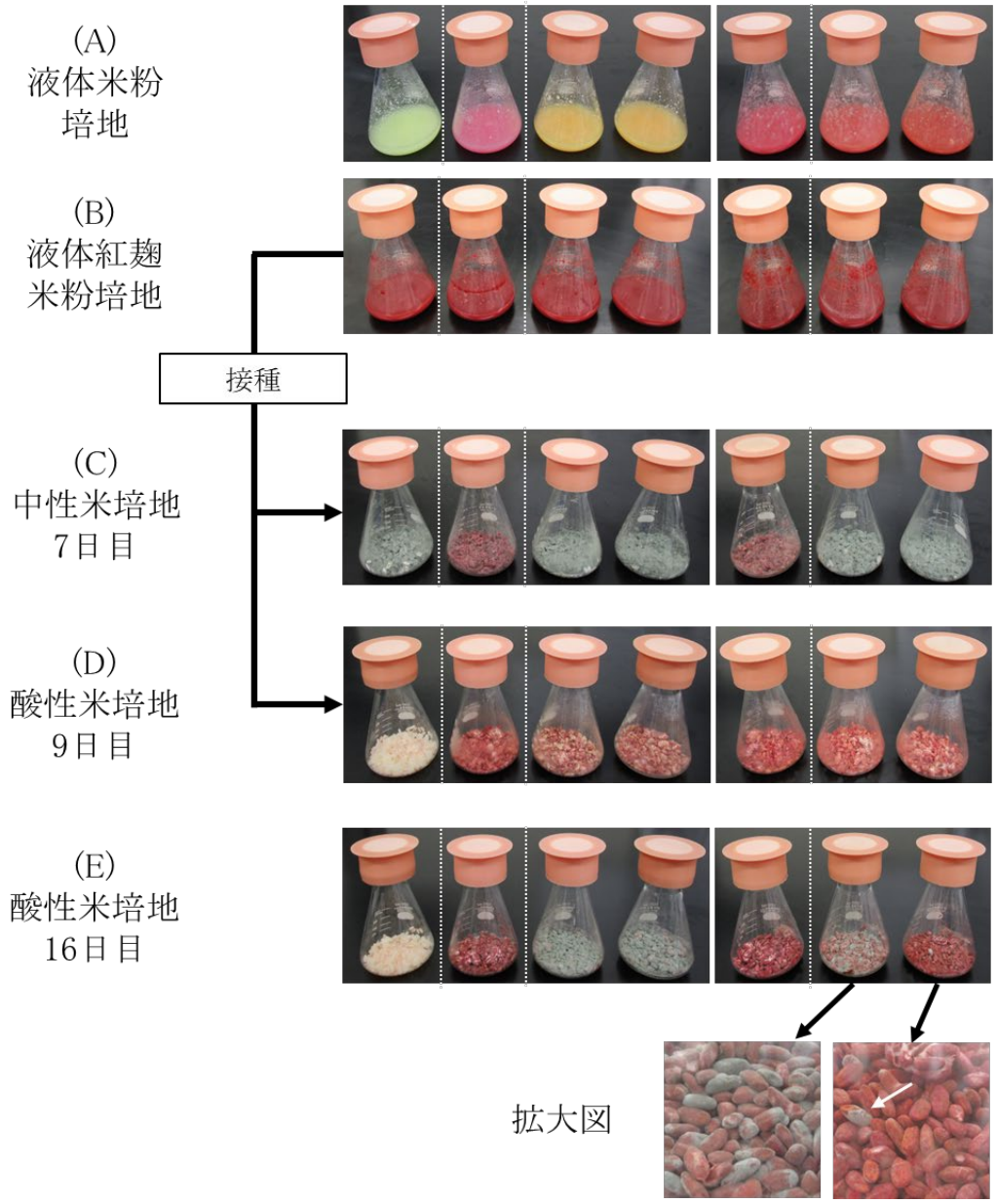


図 3　共培養試験モデル 1 の結果

Monascus pilosus 及び *Penicillium adametzioides* の胞子懸濁液を、液体米粉培地（A）及び液体紅麹米粉培地（B）に添加した。各培地に添加した胞子懸濁液の cfu は上部の表に記載した。5 日間の培養後、培養液を観察した。サンプル ID III と V については、それぞれ 2 検体ずつ調製した。（C）液体紅麹米粉培地の各培養液を中性米培地に接種した。7 日間培養後、培地を観察した。（D）液体紅麹米粉培地の各培養液を酸性の米培地に接種した。9 日間培養後、培地を観察した。（E）酸性の米培地での培養を 16 日目まで続け、培地を観察した。緑色の胞子で部分的に覆われていた 2 つの検体の拡大図を示す。白い矢印は *P. adametzioides* で覆われた紅麹を示す。

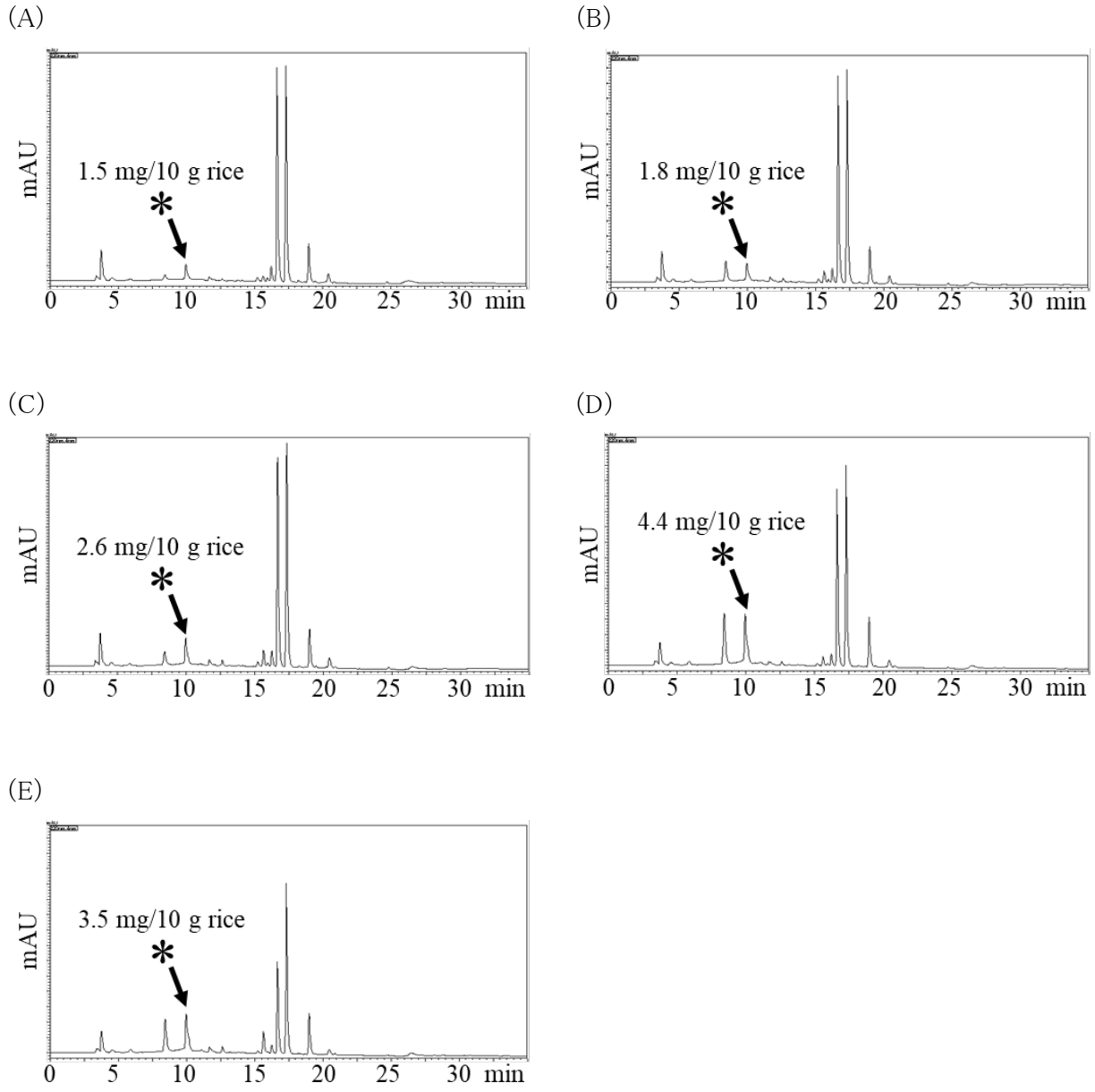


図 4　共培養試験モデル 1 における中性米培地の培養物の HPLC クロマトグラム（検出波長 220 nm）

（A）図 3C サンプル ID I、（B）図 3C サンプル ID III 左、（C）図 3C サンプル ID III 右、（D）図 3C サンプル ID V 左、（E）図 3C サンプル ID V 右

＊：プベルル酸のピーク

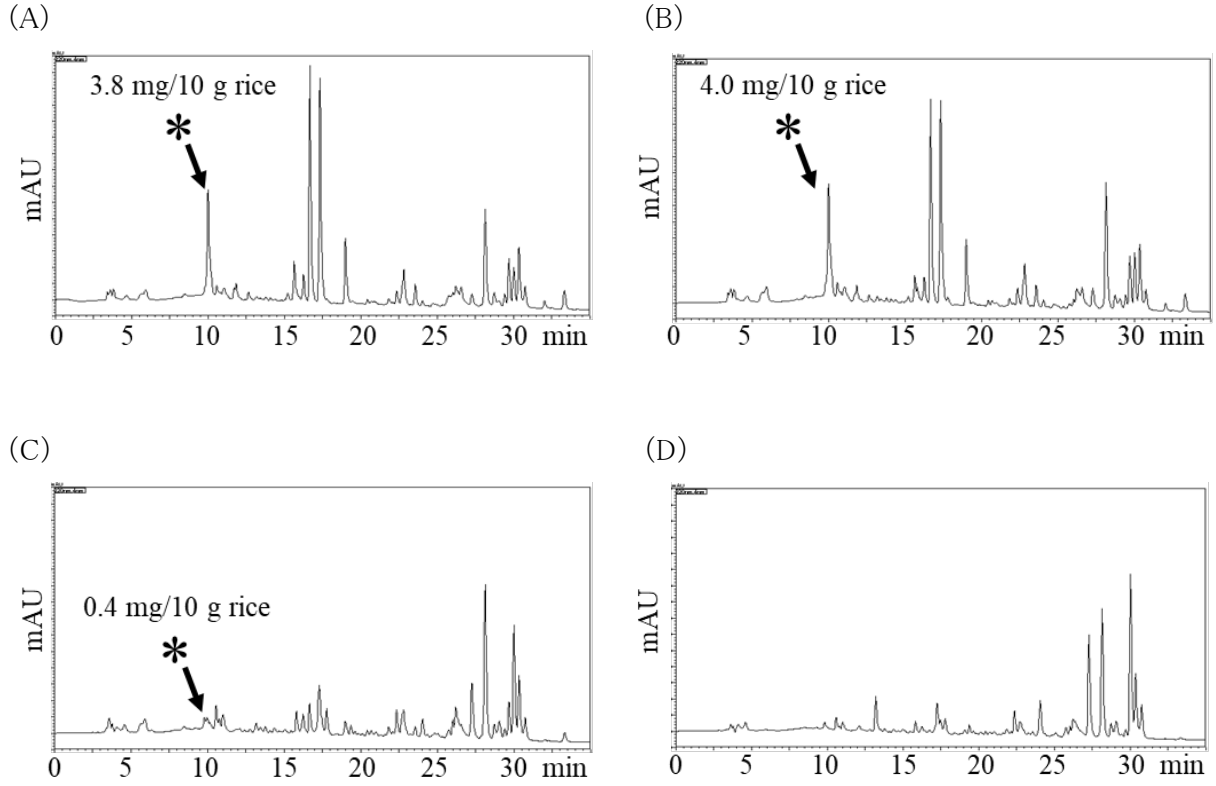


図 5　共培養試験モデル 1 における酸性米培地の培養物の HPLC クロマトグラム（検出波長 220 nm）

（A）図 3C サンプル ID III 左、（B）図 3C サンプル ID III 右、（C）図 3C サンプル ID V 左、（D）図 3C サンプル ID V 右

＊：プベルル酸のピーク（（D）では検出されず。）

Sample ID	I	II	III	IV	V
P. adametzioides (cfu)	100	0	100	0	100
M. pilosus (cfu)	0	10^4	10^4	10^6	10^6

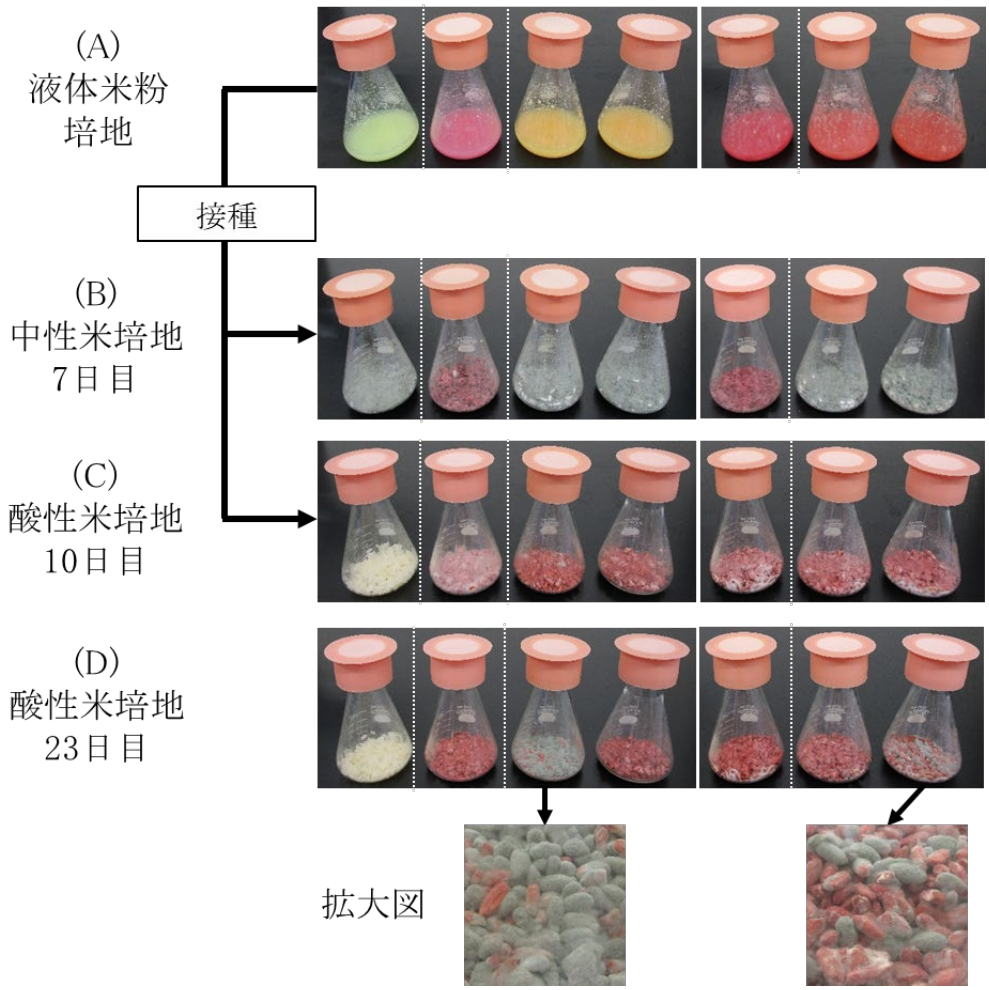


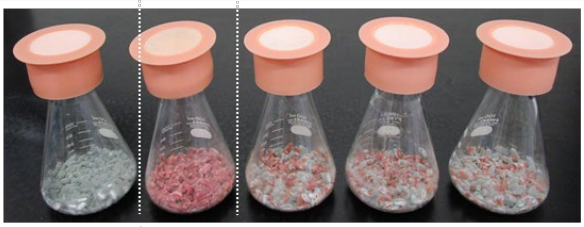
図 6　共培養試験モデル 1 の結果（補足データ）

Monascus pilosus 及び *Penicillium adametzioides* の胞子懸濁液を液体米粉培地に添加した。各培地に添加した胞子懸濁液の cfu は上部の表に記載した。(A) 5 日間の培養後、培養液を観察した。サンプル ID III と V については、それぞれ 2 検体ずつ調製した。(B) 各培養液を中性米培地に接種し、7 日間培養後、培地を観察した。(C) 各培養液を酸性米培地に接種し、10 日間培養後、培地を観察した。(D) 酸性米培地での培養を 23 日目まで続け、培地を観察した。緑色の胞子で部分的に覆われていた 2 つの検体の拡大図を示す。

(A)

Sample ID	I	II	III
P. adametzioides	+	−	+
M. pilosus	−	+	+

7日目



14日目



(B)

Sample ID	I	II	III
P. adametzioides	+	−	+
M. pilosus	−	+	+

7日目



14日目

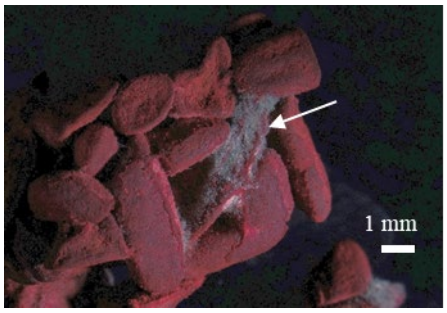


図 7　共培養試験モデル 2 の結果

(A) *Penicillium adametzioides* の胞子懸濁液と *Monascus pilosus* の液体米粉培地における培養液を、上部の表に従って中性米培地に接種した。サンプル ID III については、3 検体調製した。7 日間及び 14 日間の培養後、培地を観察した。(B) *P. adametzioides* の胞子懸濁液と *M. pilosus* の液体米粉培地における培養液を、上部の表に従って、酸性米培地に接種した。サンプル ID I 及び III については、それぞれ 2 及び 3 サンプルを調製した。7 日間および 14 日間の培養後、培地を観察した。

(A)　　(B)





(C)　　(D)





図 8　共培養試験モデル 3 及び 4 の結果

(A)紅麹米に *Penicillium adametzioides* の胞子懸濁液を接種し、14 日間培養後、培地を観察した。(B)35 日間培養後、紅麹米に *P. adametzioides* の菌糸が付着した米粒が少量認められた。*P. adametzioides* の胞子懸濁液を、オートクレーブ処理後に乾燥させた紅麹米(C)と、オートクレーブ処理のみを行った紅麹米(D)に接種した。14 日間の培養後、培地を観察した。各実験は 3 連で行った。

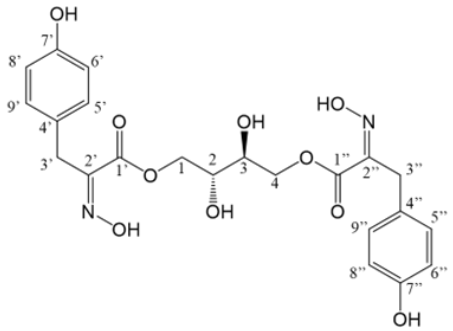
表 1　紅麹製造工場から分離された *Penicillium adametzioides* が
産生した代謝物の質量分析の結果

化合物名	Mass (*m/z*) 測定値 / 理論値		推定分子式
	ポジティブ モード	ネガティブ モード	
Aspergillusol A (**1**)	477.1499 / 477.1503	475.1357 / 475.1358	$C_{22}H_{24}N_2O_{10}$
Lapatin A (**2**)	414.1553 / 414.1561	412.1414 / 412.1415	$C_{23}H_{19}N_5O_3$
Glyantrypine (**3**)	345.1342 / 345.1346	343.1200 / 343.1200	$C_{20}H_{16}N_4O_2$

表 2　Aspergillusol A (1)の NMR スペクトルの解析結果

Position[a]	δ_C[b]	δ_H[b]	(J in Hz)
1	66.7	4.12	dd (11.1, 5.7)
		4.31	d (10.8)
2	69.1	3.65	m
3	69.1	3.65	m
2-OH		5.15	brs
3-OH		5.15	brs
4	66.7	4.12	dd (11.1, 5.7)
		4.31	d (10.8)
1'	163.8		
2'	150.1		
2'=N-OH		12.36	s
3'	29.2	3.72	s
4'	126.5		
5'	129.7	7.02	d (8.4)
6'	115.2	6.64	d (8.4)
7'	155.8		
7'-OH		9.20	s
8'	115.2	6.64	d (8.4)
9'	129.7	7.02	d (8.4)
1"	163.8		
2"	150.1		
2"=N-OH		12.36	s
3"	29.2	3.72	s
4"	126.5		
5"	129.7	7.02	d (8.4)
6"	115.2	6.64	d (8.4)
7"	155.8		
7"-OH		9.20	s
8"	115.2	6.64	d (8.4)
9"	129.7	7.02	d (8.4)

[a]炭素の位置は以下に示す。

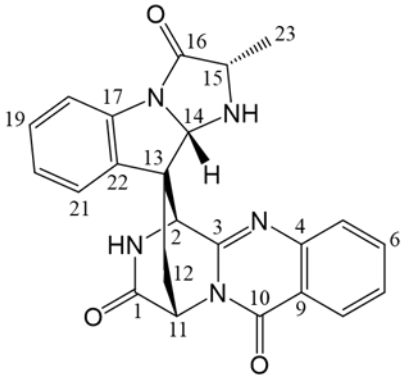


[b]DMSO-d_6を用い、25 ℃、600 MHz (^{1}H)/151 MHz (^{13}C)で測定した。DMSO由来のシグナル (39.52 (^{13}C)と2.50 (^{1}H) ppm)を用いてケミカルシフトを補正した。

表 3　Lapatin A (2)の NMR スペクトルの解析結果

Position[a]	δ_C [b]	δ_H [b]	(J in Hz)
1	170.2		
2	56.5	4.26	d (5.4)
3	152.7		
4	147.5		
5	127.3	7.71	d (8.4)
6	134.6	7.85	td (7.5, 1.5)
7	126.9	7.57	td (7.5, 1.5)
8	126.3	8.19	dd (8.4, 1.5)
9	120.4		
10	158.5		
11	53.1	5.49	m
12a	36.6	2.64	dd (14.7, 2.4)
12b		2.46	dd (14.7, 3.0)
13	51.3		
14	83.2	5.36	brs
15	59.0	4.02	m
16	170.6		
17	136.8		
18	114.3	7.47	d (7.5)
19	129.2	7.41	td (7.5, 1.2)
20	124.8	7.24	td (7.5, 1.2)
21	126.0	7.17	d (7.5)
22	137.9		
23	17.6	1.27	d (6.6)
1-NH		9.24	d (5.4)

[a]炭素の位置は以下に示す。

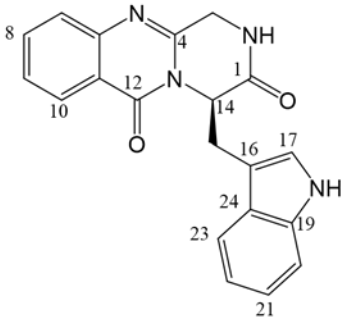


[b]DMSO-d_6を用い、25 ℃、600 MHz (^{1}H)/151 MHz (^{13}C)で測定した。DMSO由来のシグナル(39.52 (^{13}C)と2.50 (^{1}H) ppm)を用いてケミカルシフトを補正した。

表 4　Glyantrypine (3)の NMR スペクトルの解析結果

Position[a]	δ_C[b]	δ_H[b]	(J in Hz)
1	170.2		
2		6.59	brs
3	44.6	3.93	dd (16.8, 3.6)
		2.81	d (16.8)
4	149.1		
6	146.2		
7	126.4	7.58	brd (8.1)
8	135.6	7.81	td (8.1, 1.2)
9	127.8	7.57	td[c]
10	127.5	8.39	dd (8.1, 1.2)
11	120.3		
12	160.5		
13			
14	57.1	5.49	m
15	27.6	3.75	dd (15.0, 2.7)
		3.64	dd (15.0, 5.4)
16	109.2		
17	123.9	6.69	d (2.4)
18		8.21	brs
19	136.3		
20	111.7	7.31	d (7.7)
21	123.2	7.13	t (7.7)
22	120.6	6.92	t (7.7)
23	118.7	7.37	d (7.7)
24	127.4		

[a]炭素の位置は以下に示す。



[b]クロロホルム-*d*を用い、25 ℃、600 MHz (^{1}H)/151 MHz (^{13}C)で測定した。クロロホルム由来のシグナル(77.36 (^{13}C)と7.26 (^{1}H) ppm)を用いてケミカルシフトを補正した。

[c]他のシグナルと重なったため、カップリングの情報が得られなかった。

Ⅱ．分担研究報告書

（7）紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究

（7-2）化合物Ｙ及び化合物Ｚの立体構造解明

研究分担者　伊藤　美千穂

令和6年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（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のための研究

分担研究報告書

（7）紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究
（7-2）化合物Ｙ及び化合物Ｚの立体構造解明

研究分担者　伊藤 美千穂　国立医薬品食品衛生研究所生薬部

研究要旨

2024年3月下旬、紅麹を含む健康食品の摂取により健康被害が生じていることが、上記健康食品の製造元より公表され、国立衛研において健康被害の原因究明を実施した。その中で我々は、上記健康食品の原料を用いた網羅的分析を実施し、健康被害情報ありの製品原料に特徴的な3成分を見いだした。これら3成分のうち、化合物Y及び化合物Zについては、新規の天然化合物であることが判明し、その平面構造を2024年6月に公表した。しかし、上記健康食品中に含まれる化合物Y及び化合物Zの立体構造は明らかになっていなかったため、それらを突き止めるべく、UHPLC/HRMS、NMR法、スポンジ結晶法の三通りの分析法を利用し、様々な分析及び解析を実施した。Lovastatin acidから化学合成することで得た化合物Y合成物、化合物Z合成物について、NMR法及びスポンジ結晶法で分析を行った結果、それらの立体配置はlovastatin acidと同一であった。さらに、これらの合成物に加え、上記健康食品から単離精製して得られた化合物Y単離物、化合物Z単離物を用い、UHPLC/HRMS及びNMR法で分析した結果を単離物と合成物で比較した。その結果、化合物Y及び化合物Zについて、それぞれ単離物と合成物の立体構造が一致すると考えられ、健康被害情報ありの製品中に含まれた化合物Y及び化合物Zの構造が立体構造も含めて決定された。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

増本直子　田中誠司

A. 研究目的

2024 年 3 月下旬、紅麹を含む健康食品の摂取により健康被害が生じていることが、上記健康食品の製造元より公表された [1]。健康被害の原因を究明するために、国立衛研では、当該健康食品の原料を用いて、複数の異なる原理の分析機器による網羅的分析を実施し、健康被害情報があるロットとそうでないロットを比較するなど様々な調査を実施した。その結果、健康被害情報ありのロットからは、特徴的な 3 成分が見いだされた。厚生労働省は、これら 3 成分がそれぞれ図 1 に示すプベルル酸、化合物 Y、化合物 Z であることを 2024 年 5 月 28 日に公表した [1]。また、国立衛研では、この化合物Ｙ及び化合物Ｚが新規の天然化合物であること及びその平面構造について、2024 年 6 月 4 日に *Journal of Natural Medicines* 誌に公開した [2]。上記の調査にて、化合物Ｙ及び化合物Ｚは、共に lovastatin acid（モナコリン K（酸型））の類縁体であることが判明したが、その立体構造は明らかになっていなかった。

本研究の目的は、UHPLC/HRMS、NMR 法、スポンジ結晶法の三通りの分析法を利用し、当該健康食品から検出された化合物 Y 及び化合物 Z の立体構造を明らかにすることである。

B. 研究方法

1. 試料及び試薬

当該健康食品から単離精製した化合物 Y 及び化合物 Z を、それぞれ化合物 Y 単離物(0.80 mg)、化合物 Z 単離物(2.77 mg)として用いた。化合物 Y 合成物(13.4 mg)及び化合物 Z 合成物(3.5 mg)は、アクセリード株式会社が化学合成したものを購入し用いた。Lovastatin 及び lovastatin acid は当該健康食品の製造元から入手した。重溶媒として用いた dimethyl sulfoxide-d_6 (DMSO-d_6)は、Acros Organics 社製の 100.00% D グレードのものを購入した。NMR 試料管は、対称形ミクロサンプルチューブ DMS-005J(Shigemi Co., Ltd.)及び 535-PP-7 (Wilmad-LabGlass Co.)を用いた。0.1% (v/v) ぎ酸-蒸留水、アセトニトリル、0.1% (v/v) ぎ酸-アセトニトリルは関東化学製の LC/MS グレードをそれぞれ購入し用いた。メタノールは富士フイルム和光純薬製 LC/MS グレードのものを用いた。水は Milli-Q Integral(Merck)で製したものを用いた。

2. 機器

・UHPLC/HRMS

Q Exactive-Orbitrap MS 及び Dionex UltiMate 3000 HPLC (Thermo Fisher Scientific)

・NMR

Ultra Cool CH probe 付き JNM-ECZ800

Ultra Cool HX probe 付き JNM-ECZL800

(日本電子)

3. UHPLC/HRMS 分析

3-1. 試験溶液の調製

化合物 Y 単離物、化合物 Y 合成物、化合物 Z 単離物、化合物 Z 合成物の全量をそれぞれ DMSO-d_6 400 µL に溶解させ、試料原液とした。各試料原液 100 µL について、1.4 mL の 75% (v/v) メタノールで希釈したものを試料溶液とし、UHPLC/HRMS に供した。

3-2. UHPLC/HRMS 測定条件

1)UHPLC 条件

移動相 A:0.1% (v/v) ぎ酸-蒸留水,

移動相 B:0.1% (v/v) ぎ酸-アセトニトリル

グラジエント:B 20% (0 min)→B 100% (39 min)

カラム:ACQUITY UPLC HSS T3

(2.1 mm×100 mm, 粒子径 1.8 µm, Waters)

カラム温度:40℃

オートサンプラー温度:15℃

注入量:2 µL

流量:0.3 mL/min

PDA 検出器データ採取範囲:190-800 nm

2)HRMS 条件

イオン化:HESI (positive / negative)

Spray voltage:3.5kV (+)、2.5kV (-)

Capillary temperature:262.5℃ (+)、256.25℃(-)

データ取得:scan 及び dd-MS

分解能:70,000 (scan 時)、17,500 (dd-MS 時)

Scan range:150-2000 *m/z*

解析ソフト:Xcalibur ver. 4.2(Thermo Fisher Scientific)

4. NMR 分析

4-1. 試験溶液の調製

3-1 で調製した化合物 Y 単離物、化合物 Y 合成物、化合物 Z 単離物、化合物 Z 合成物の試料原液 250 µL を NMR 試料管(DMS-005J)に入れ試料溶液とした。また、lovastatin 及び lovastatin acid それぞれ 10 mg を DMSO-d_6 1 mL に溶解し、その 600 µL を NMR 試料管(535-PP-7)にとり、試料溶液とした。また、化合物 Z 単離物及び化合物 Z 合成物の試料溶液を、量比が単離物:合成物=2:1 及び 1:5 の二通りになるよう混合し、化合物 Z 混合溶液を作製した。これらの試料溶液及び混合溶液を NMR 分析に供した。

4-2. NMR 測定条件

測定プログラム:^{1}H-NMR、^{13}C-NMR

測定温度:25℃

解析ソフト:Delta ver. 6.3 (日本電子)、

Mnova ver. 15.0 (Mesetrelab Research)

4. NMR 分析

4-1. 試験溶液の調製

3-1 で調製した化合物 Y 単離物、化合物 Y 合成物、化合物 Z 単離物、化合物 Z 合成物の試料原液 250 μL を NMR 試料管(DMS-005J)に入れ試料溶液とした。また、lovastatin 及び lovastatin acid それぞれ 10 mg を DMSO-d_6 1 mL に溶解し、その 600 μL を NMR 試料管(535-PP-7)にとり、試料溶液とした。また、化合物 Z 単離物及び化合物 Z 合成物の試料溶液を、量比が単離物:合成物=2:1 及び 1:5 の二通りになるよう混合し、化合物 Z 混合溶液を作製した。これらの試料溶液及び混合溶液を NMR 分析に供した。

4-2. NMR 測定条件

測定プログラム:^{1}H-NMR、^{13}C-NMR

測定温度:25℃

解析ソフト:Delta ver. 6.3 (日本電子)、

Mnova ver. 15.0 (Mesetrelab Research)

5. スポンジ結晶法

テクモフ株式会社に依頼し、化合物 Y、Z 単離物及び化合物 Y、Z 合成物の 4 検体について、スポンジ結晶法を利用した X 線構造解析に供した。

C. 研究結果及び考察

1. 化合物 Y 及び Z の単離物と合成物の比較

当該健康食品から単離精製された化合物 Y 及び Z の立体構造を明らかにするため、lovastatin acid を元に化学合成した化合物 Y 及び Z の合成物を入手し、UHPLC/HRMS 及び NMR を用いて分析結果を比較した。

1-1. UHPLC/HRMS

化合物 Y 単離物及び化合物 Y 合成物の試料溶液を分析した結果、どちらも約 28 分で溶出された(図 2)。また、その MS スペクトル及び MS/MS スペクトルを比較したところ、すべて一致した(図 3)。同様に化合物 Z 単離物及び化合物 Z 合成物についても分析を行った。その結果、どちらの試料溶液からも、保持時間 20 分に同じ MS スペクトル及び MS/MS スペクトルを持ったピークが得られた(図 4、図 5)。UHPLC/HRMS の結果から、化合物 Y、Z についてその単離物と混合物の平面構造は一致していると考えられた。非常に高い分離能をもつ UHPLC では、立体構造が一部異なるジアステレオマーの化合物については、保持時間がわずかに異なって溶出することが多い。そのため、立体構造についても、単離物と合成物は同じである可能性が高いと推測された。しかしUHPLC であっても、分析対象の構造、カラムの担体及び分離条件によっては、ジアステレオマーの化合物が同じ保持時間で溶出する可能性がある。そこで、次項に示す NMR 分析を実施した。

1-2. NMR 分析

化合物 Y 単離物及び化合物 Y 合成物、化合物 Z 単離物及び化合物 Z 合成物、lovastatin、lovastatin acid について ^{1}H-NMR 及び ^{13}C-NMR を行い、それぞれ表 1 及び表 2 の結果を得た。単離物と合成物の結果を比較したところ、化合物 Y、Z ともにほとんどのシグナルについて化学シフトが一致したが、^{1}H-NMR では 5'位、^{13}C-NMR では 5'位、6'位のシグナルについて、単離物と合成物で化学シフトが大きく異なった。合成物の 5'位、6'位のシグナルは、lovastatin acid のそれと近い値であったことから、合成物の立体配置は lovastatin acid と同一である可能性が高いと考えられた。一方で、単離物の 5'位、6'位のシグナルは化学シフトが大きく異なっていたことから、4'位の不斉炭素に関する立体配置が単離物と合

成物では反対である可能性が考えられた（図1）。

2. 化合物 Z 混合溶液の NMR 分析

前項での NMR 分析により、化合物 Y 及び Z の単離物と合成物の立体構造は、それぞれジアステレオマーの関係である可能性が生じた。ジアステレオマー同士の試料溶液を混合して NMR を測定した場合、立体配置の違いから生じた異なる化学シフトのシグナルについて、混合溶液からは両方のシグナルが得られる可能性が高い（図6）。

そこで、二通りの混合比率で作成した化合物 Z 混合溶液の ^{1}H-NMR を行った。得られた ^{1}H-NMR スペクトル及びその一部についての拡大図を図 7-1-7-3 に示す。混合物の測定の結果、単離物と合成物でわずかに化学シフトが異なっていた 4’位、1’’位、3’’位のシグナルで、これらのシグナルが 2 本ずつ観測されるのではなく、単離物とも合成物とも異なる位置にシグナルが観測された。また、二通りの混合比率の結果を比較すると、単離物と合成物の混合比率により、シグナルがシフトする値が異なっていた。図 6 に示すような結果は得られなかったことから、化合物 Z 単離物と化合物 Z 合成物の立体配置は一致している可能性が高いと考えられた。5’位、6’位の化学シフトの相違に関しては、単離物に含まれる不純物等が影響したものと考えられた。

化合物 Y についてはサンプルの量が少なく、混合溶液の NMR 分析を行うことはできなかった。しかし、化合物 Y と化合物 Z では 5’位、6’位のシグナルの化学シフトについて、同様の傾向を示していた（表 1、表 2）。そのため、化合物 Y についても化合物 Z と同じく、lovastatin acid と同一の立体構造であると考えられた。

3. スポンジ結晶法

化合物 Y、Z 合成物について、スポンジ結晶法による X 線構造解析を実施した結果、全ての立体配置が lovastatin acid の立体配置と一致した（図 8）。化合物 Y、Z 単離物についても同様の手順で解析を試みたが、立体構造の特定には至らなかった。単離物は合成物よりも量が少なく、また、不純物が多く含まれるため、本手法での構造解析が困難だったものと推測された。

D. 結論

本研究課題では、三つの手法での分析を行い、当該健康食品から検出された化合物 Y 及び化合物 Z の立体構造を明らかにした。NMR 及びスポンジ結晶法により、化合物 Y、Z 合成物の立体配置が lovastatin acid と一致することを確認した。また、UHPLC/HRMS 及び NMR により、単離物と合成物の立体配置が同一であると推定された。化合物 Y 及び化合物 Z は、紅麹と *Penicillium adametzioides* が同一環境にいたことで共培養により産生されたものと考えられている [1)]。紅麹中の lovastatin や lovastatin acid が出発原料となり、化合物 Y 及び Z が生合成されたと推定すると、これらの立体構造が lovastatin acid と同じであることは妥当と考えられる。本研究の結果と生物的な背景から総合的に考え、新規化合物 Y、Z は図 9 に示す構造であると決定した。

E. 参考文献

1) 厚生労働省 健康被害情報：「いわゆる健康食品」による健康被害事例（https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/daietto/index.html）. Accessed March 24, 2025

2) Tanaka, S., Masumoto, N., Makino, T., Matsushima, Y., Morikawa, T., Ito, M.. Novel compounds isolated from health food products containing beni-koji (red yeast rice) with adverse event reports. *J Nat Med*, 78, 845-848 (2024)

F.研究業績

1. 論文発表

1) Tanaka, S., Masumoto, N., Makino, T.,

Matsushima, Y., Morikawa, T., Ito, M.. Novel compounds isolated from health food products containing beni-koji (red yeast rice) with adverse event reports. *J Nat Med*, 78, 845-848 (2024)

2. 学会発表等

1) 伊藤美千穂: 紅麹関連製品に係る事案の原因究明の取り組み状況について. 第67回日本腎臓学会学術総会 (2024.6)
2) 伊藤美千穂: 紅麹を含む健康食品の健康被害事案原因究明チームのひとりとして働きました. 国立衛研・島津製作所 第 4 回技術交流会 (2024.12)
3) 伊藤美千穂: 紅麹を含む機能性表示食品による事故の調査経緯について. 日本薬学会第 145 年会 (2025.3)

表 1 それぞれの化合物の ^{1}H-NMR における各シグナルの情報（δ in ppm, J in Hz)[a]

Assignment	化合物Y 単離物	化合物Y 合成物	化合物Z 単離物	化合物Z 合成物	Lovastatin	Lovastatin acid
	δ_H	δ_H	δ_H	δ_H	δ_H	δ_H
CH (1)	5.21 (1H, q, 3.2)	5.21 (1H, q, 3.2)	4.03 (1H, q, 3.2)	4.03 (1H, q, 3.2)	5.23 (1H, q, 3.3)	5.19 (1H, q, 3.2)
CH_2 (2)	1.80 (1H, m)	1.81 (1H, dd, 14.7, 3.9)	1.70 (1H, m)	1.74 (2H, m)	1.83 (1H, dd, 15.0, 3.6)	1.84 (1H, dd, 14.9, 3.8)
	1.94 (1H[b])	1.94 (1H, m)	1.74 (1H, m)		1.94 (1H, ddd, 14.8, 8.1, 2.4)	1.94 (1H[c])
CH (3)	2.37 (1H, m)	2.39 (1H, m)	2.29 (1H, m)	2.29 (1H, m)	2.40 (1H, m)	2.40 (1H[c])
CH (4)	5.48 (1H, t, 3.7)	5.49 (1H, t, 3.5)	5.38 (1H, t, 3.4)	5.39 (1H, t, 3.5)	5.50 (1H, t, 3.5)	5.48 (1H, t, 3.3)
C (4a)						
CH (5)	5.94 (1H, d, 9.7)	5.94 (1H, d, 9.7)	5.87 (1H, d, 9.6)	5.88 (1H, d, 9.7)	5.95 (1H, d, 9.6)	5.93 (1H, d, 9.7)
CH (6)	5.77 (1H, dd, 9.7, 6.0)	5.77 (1H, dd, 9.6, 6.1)	5.71 (1H, dd, 9.6, 6.0)	5.71 (1H, dd, 9.6, 6.0)	5.78 (1H, dd, 9.7, 6.0)	5.77 (1H, dd, 9.7, 5.8)
CH (7)	2.30 (1H, m)	2.31 (1H, m)	2.25 (1H, m)	2.26 (1H, m)	2.34 (1H, m)	2.32 (1H[c])
CH (8)	1.52 (1H, m)	1.54 (1H, m)	1.68 (1H, m)	1.68 (1H, m)	1.60 (1H, m)	1.57 (1H[c])
CH (8a)	2.24 (1H[b])	2.26 (1H[b])	1.94 (1H[b])	1.94 (1H[b])	2.31 (1H, m)	2.24 (1H, m)
CH_2 (9)	1.10 (2H, m)	1.11 (1H, m)	1.01 (2H, m)	1.01 (2H, m)	1.27 (1H, m)	1.25 (2H[c])
		1.32 (1H, m)			1.37 (1H, m)	
CH_2 (10)	1.27 (1H, m)	1.27 (1H, m)	1.40 (1H, m)	1.40 (1H, m)	1.26 (1H, m)	1.38 (1H[c])
	1.57 (1H, m)	1.59 (1H, m)	1.56 (1H, m)	1.58 (1H, m)	1.74 (1H[b])	1.08 (1H, m)
CH_3 (11)	1.01 (3H, d, 7.3)	1.01 (3H, d, 8.0)	1.13 (3H, d, 7.3)	1.13 (3H, d, 7.4)	1.02 (3H, d, 7.0)	1.01 (3H[c])
CH_3 (12)	0.80 (3H, d, 7.0)	0.82 (3H, d, 7.0)	0.79 (3H, d, 7.0)	0.79 (3H, d, 7.0)	0.85 (3H, d, 7.0)	0.83 (3H[c])
CH (2')	4.76 (1H, m)	4.76 (1H, m)	4.81 (1H, m)	4.81 (1H, m)	4.47 (1H, m)	3.46 (1H, tt, 8.2, 4.3)
CH_2 (3')	1.80 (2H, m)	1.76 (1H, m)	1.82 (2H, m)	1.86 (2H, m)	1.62 (1H, m)	1.39 (1H[c])
		1.87 (1H, m)			1.76 (1H, dtd, 14.0, 3.6, 2.0)	1.49 (1H, m)
CH (4')	5.06 (1H, m)	5.08 (1H, m)	5.09 (1H, m)	5.10 (1H, m)	4.10 (1H, sext, 3.6)	3.95 (1H, m)
CH_2 (5')	3.51 (2H, m)	2.47 (1H, dd, 16.0, 7.4)	3.50 (2H, m)	2.48 (1H, overlapped)	2.38 (1H, m)	2.19 (1H, dd, 14.9, 8.1)
		2.53 (1H, dd, 16.3, 5.5)		2.55 (1H, dd, 16.1, 5.4)	2.61 (1H, dd, 17.3, 4.5)	2.33 (1H[c])
C (6')						
OH (6'a)	8.43 (brs)		8.39 (brs)			8.14 (brs)
C (1'')						
CH (2'')	2.25 (1H, m)	2.27 (1H, m)			2.30 (1H, m)	2.28 (1H[c])
CH_2 (3'')	1.38 (1H, ddd, 13.9, 8.2, 6.3)	1.37 (1H, m)			1.39 (1H, m)	1.55 (1H[c])
	1.52 (1H, m)	1.53 (1H, m)			1.56 (1H, dt, 13.4, 7.4)	1.38 (1H[c])
CH_3 (4'')	0.80 (3H, t, 7.3)	0.81 (3H, t, 7.5)			0.83 (3H, t, 7.3)	0.82 (3H[c])
CH_3 (5'')	1.01 (3H, d, 6.9)	1.02 (3H, d, 7.0)			1.02 (3H, d, 6.8)	1.02 (3H[c])
CH_3 (1''')	1.96 (3H, s)	1.97 (3H, s)	1.98 (3H, s)	1.99 (3H, s)		
C (2''')						
CH_3 (3''')	1.92 (3H, s)	1.95 (3H, s)	1.94 (3H, s)	1.96 (3H, s)		
C (4''')						

[a] Recorded in 800 MHz (^{1}H) in DMSO-d_6 at 25 ℃. Chemical shift scales were referenced to the DMSO signals in the deuterated solvent at 2.50 ppm.

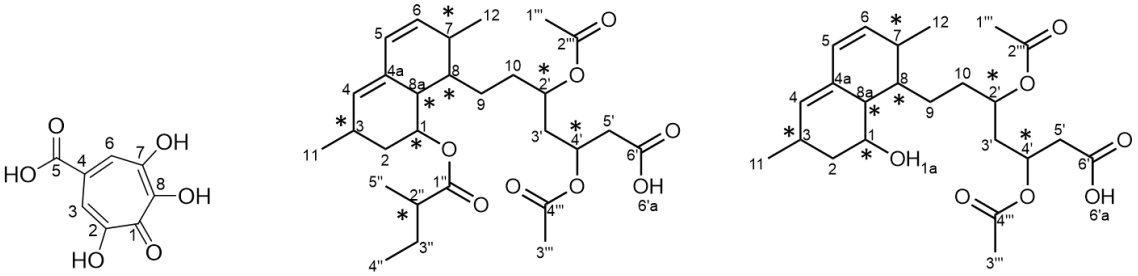
[b] Coupling information overlapped with another signal derived from itself was not described.

[c] Coupling information for the signals of lovastatin acid overlapped with signals derived from lovastatin was not described. The spectra of the lovastatin acid reagent used in this study contained signals derived from lovastatin as minor signals.

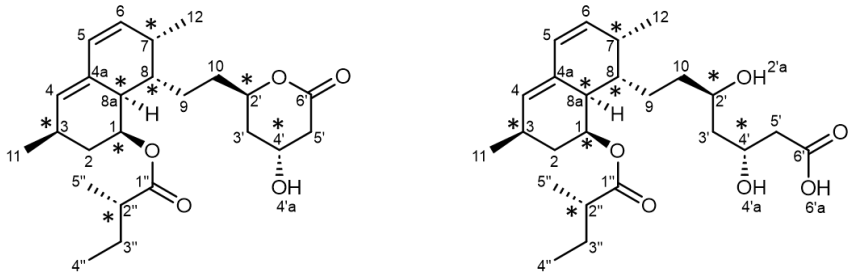
表 2 それぞれの化合物の ^{13}C-NMR における各シグナルの情報（δ in ppm)[a]

Assignment	化合物Y 単離物	化合物Y 合成物	化合物Z 単離物	化合物Z 合成物	Lovastatin	Lovastatin acid
	δ_C	δ_C	δ_C	δ_C	δ_C	δ_C
CH (1)	67.4	67.3	62.8	62.9	67.5	67.5
CH_2 (2)	32	32.0	35.7	35.68	31.8	31.9
CH (3)	26.9	26.9	27.6	27.6	26.9	26.9
CH (4)	129.2	129.2	129.3	129.4	129.0	129.2
C (4a)	131.5	131.4	131.9	131.8	131.8	131.5
CH (5)	128.2	128.2	128.9	128.9	128.2	128.2
CH (6)	133.1	133.0	132.6	132.6	133.3	133.0
CH (7)	30	30.0	30.2	30.1	30.2	30.1
CH (8)	36	36.0	35.3	35.3	36.5	36.0
CH (8a)	36.4	36.4	37.9	37.9	36.3	36.4
CH_2 (9)	22.6	22.6	23.0	23.1	24.2	23.6
CH_2 (10)	30.4	30.5	30.7	30.8	34.4	32.4
CH_3 (11)	22.6	22.6	23.1	23	22.5	22.6
CH_3 (12)	13.6	13.5	13.8	13.8	13.6	13.6
CH (2')	71.0	70.7	71.2	71.0	68.7	75.8
CH_2 (3')	37.6	37.4	37.9	37.8	44.5	35.3
CH (4')	69.2	67.8	68.9	67.9	65.9	61.2
CH_2 (5')	69.8	38.5	69.8	38.6	42.5	38.5
C (6')	165.3	171.3	165.3	171.4	173.0	170.2
OH (6'a)						
C (1'')	175.4	175.4			175.5	175.5
CH (2'')	40.7	40.8			40.7	40.7
CH_2 (3'')	26.4	26.3			26.3	26.3
CH_3 (4'')	11.3	11.3			11.3	11.3
CH_3 (5'')	15.9	16.0			16.0	16.0
CH_3 (1''')	20.9	20.8	21.0	20.9		
C (2''')	169.8	169.9	170.0	170.1		
CH_3 (3''')	21	20.8	21.0	21.0		
C (4''')	169.6	169.5	169.7	169.6		

[a] Recorded in 201 MHz (^{13}C) in DMSO-d_6 at 25 ℃. Chemical shift scales were referenced to the DMSO signals in the deuterated solvent at 39.52 ppm.



プベルル酸　　化合物Y　　化合物Z



Lovastatin　　Lovastatin acid

図 1　各化合物の構造式
*は不斉中心を示す

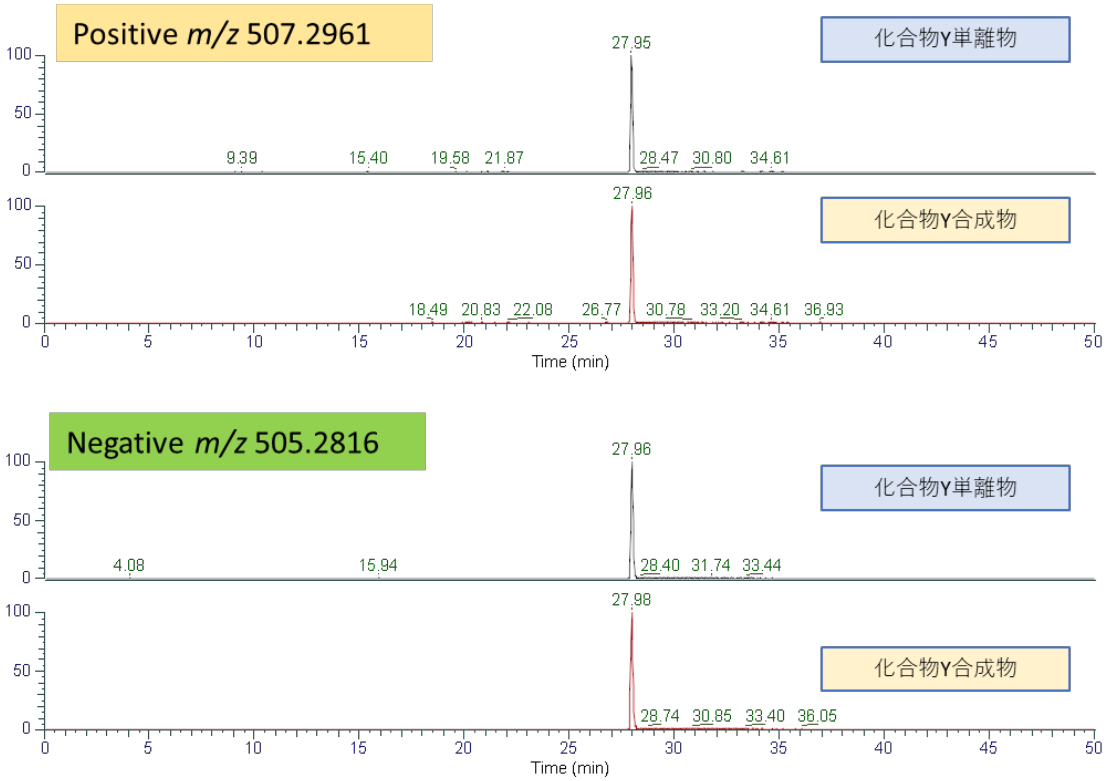


図 2　化合物 Y の UHPLC/HRMS クロマトグラム

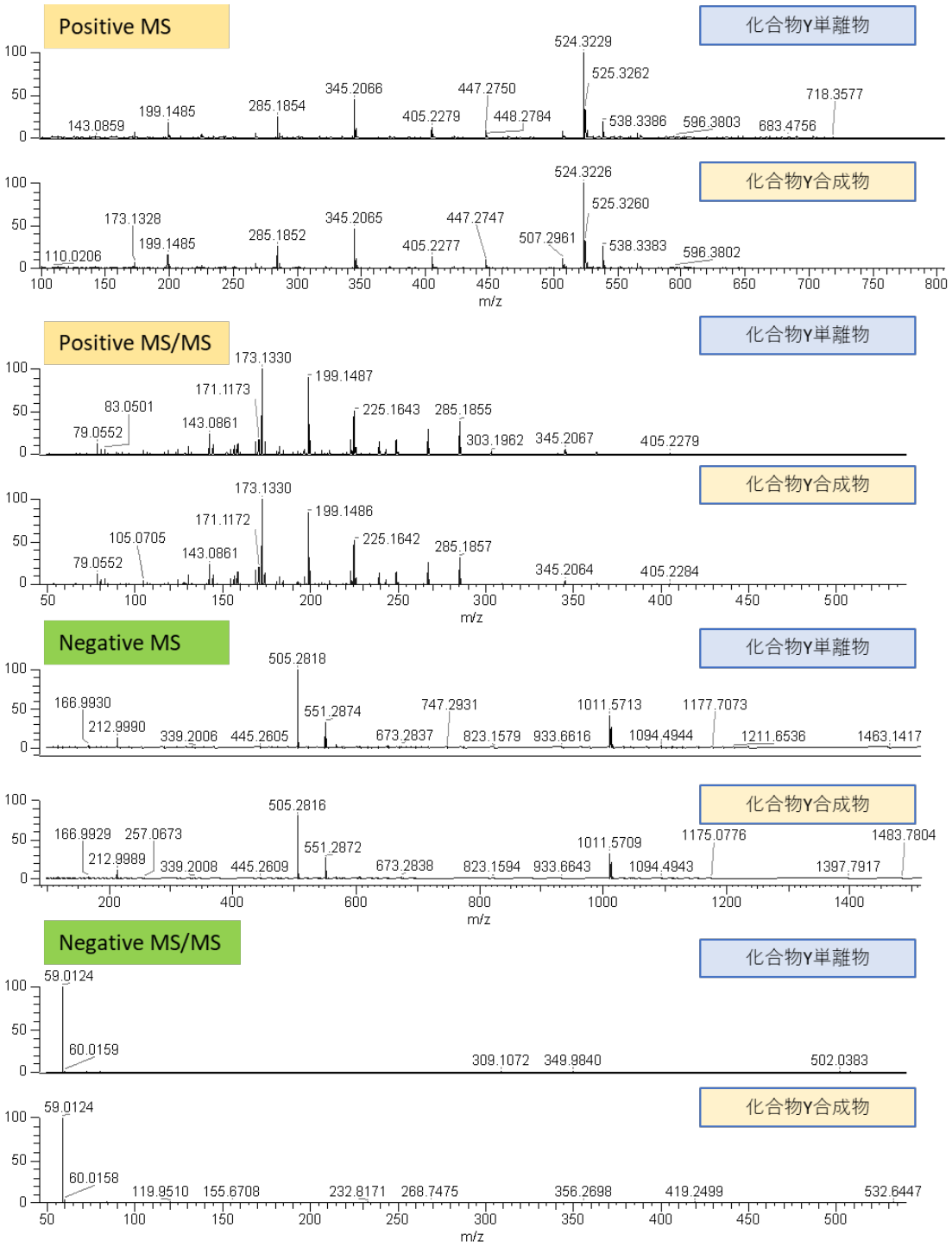


図 3　化合物 Y の MS 及び MS/MS スペクトル

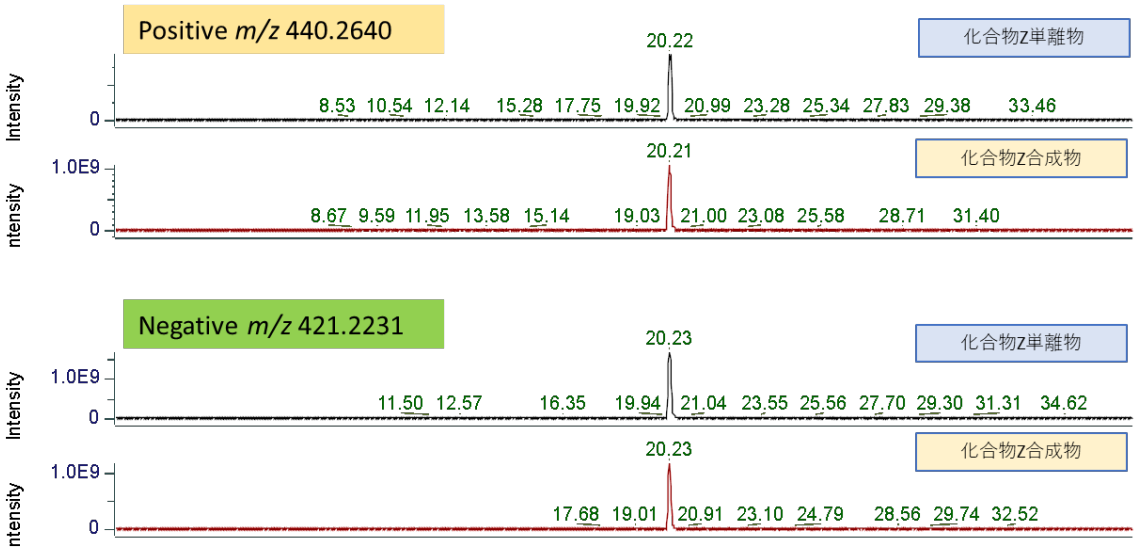


図 4　化合物 Z の UHPLC/HRMS クロマトグラム

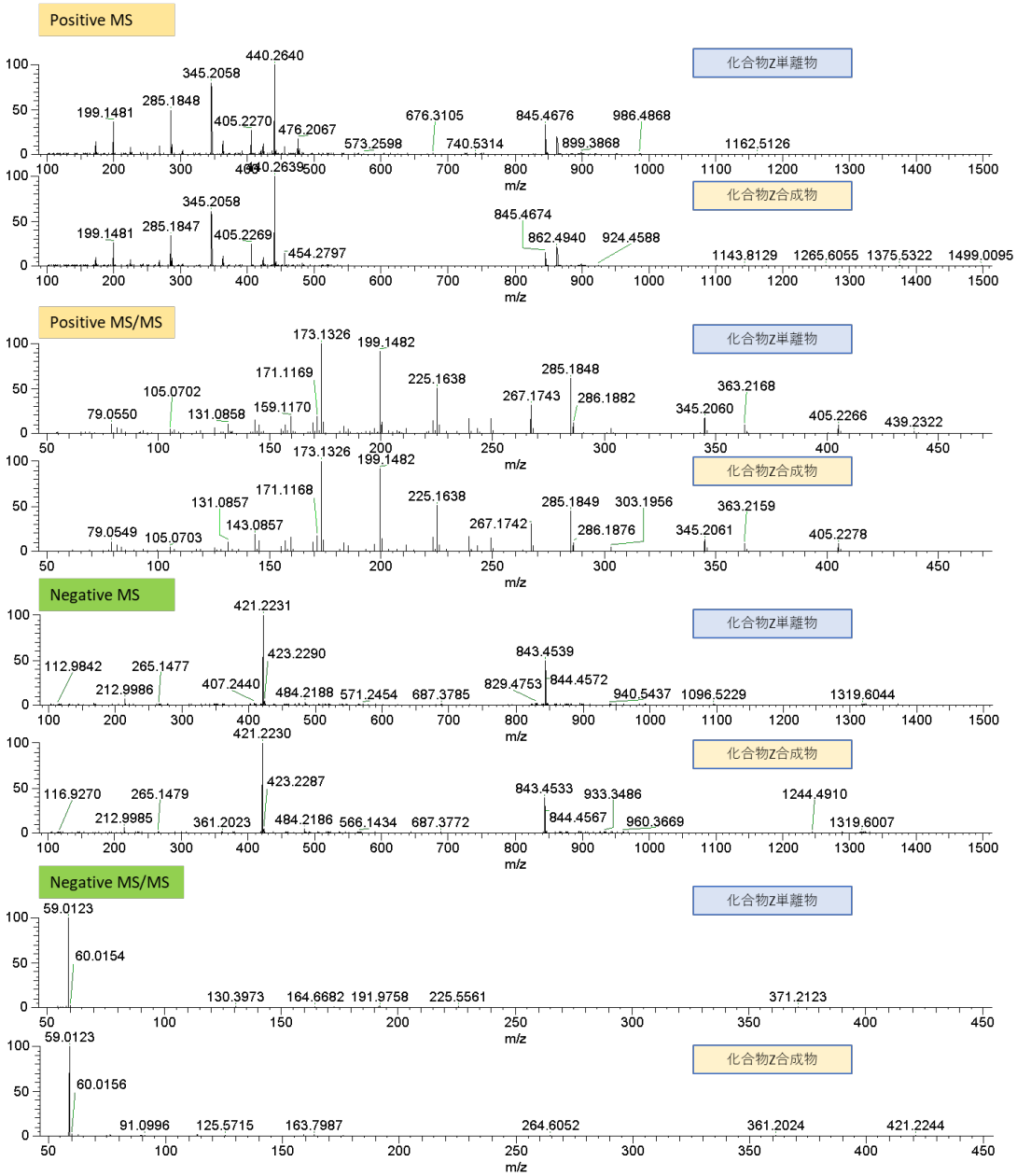


図 5　化合物 Z の MS 及び MS/MS スペクトル

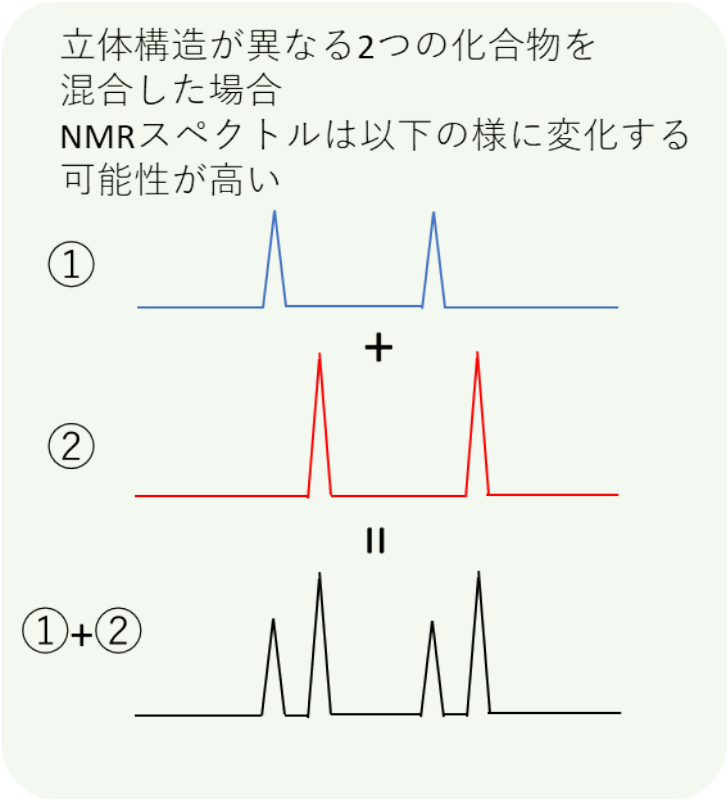


図 6　ジアステレオマーを混合した溶液についての NMR 分析の予測図

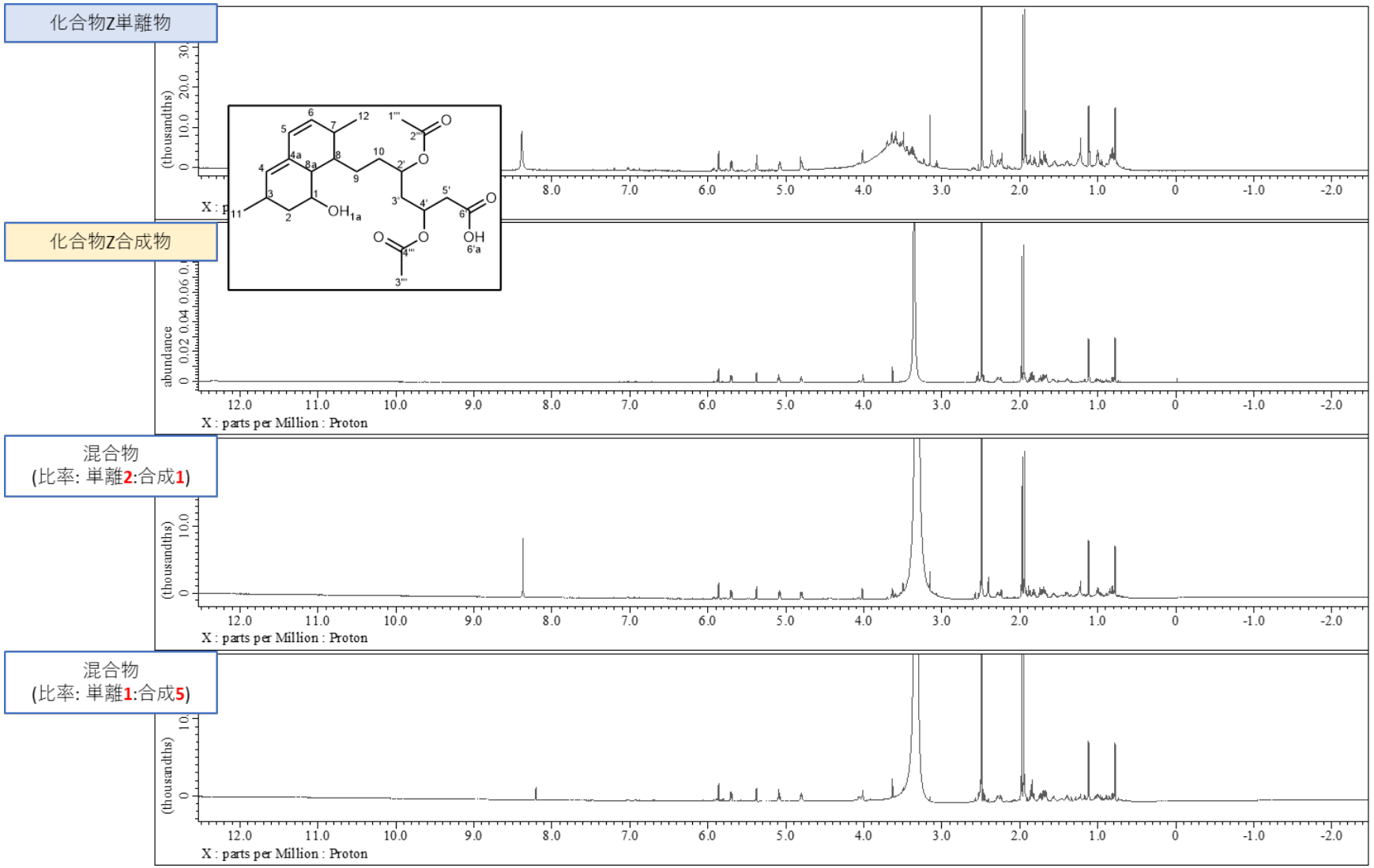


図 7-1 化合物 Z 混合溶液の ^{1}H-NMR 測定結果

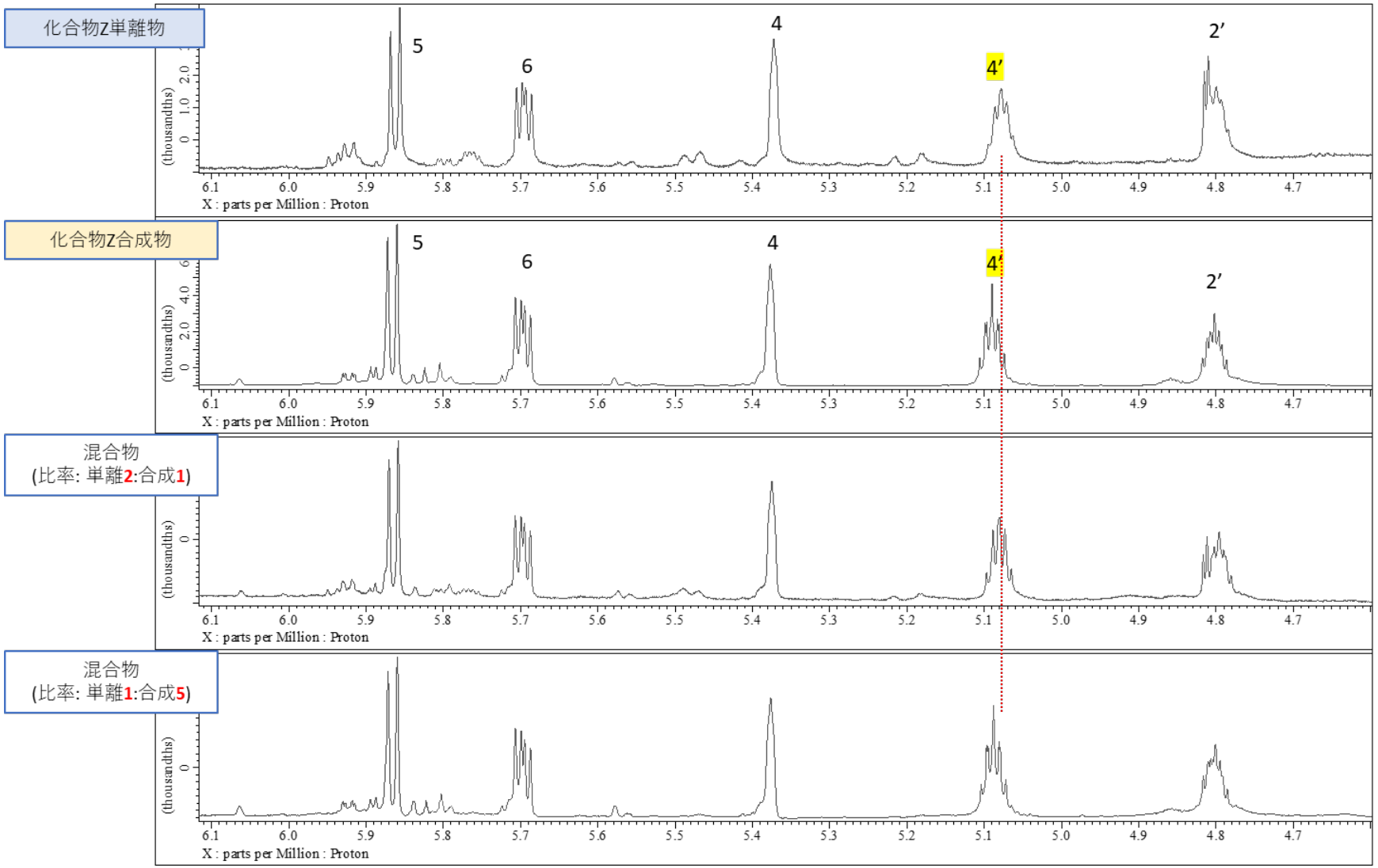


図 7-2 化合物 Z 混合溶液の ^{1}H-NMR 測定結果(拡大図 4.6 ppm-6.1 ppm)

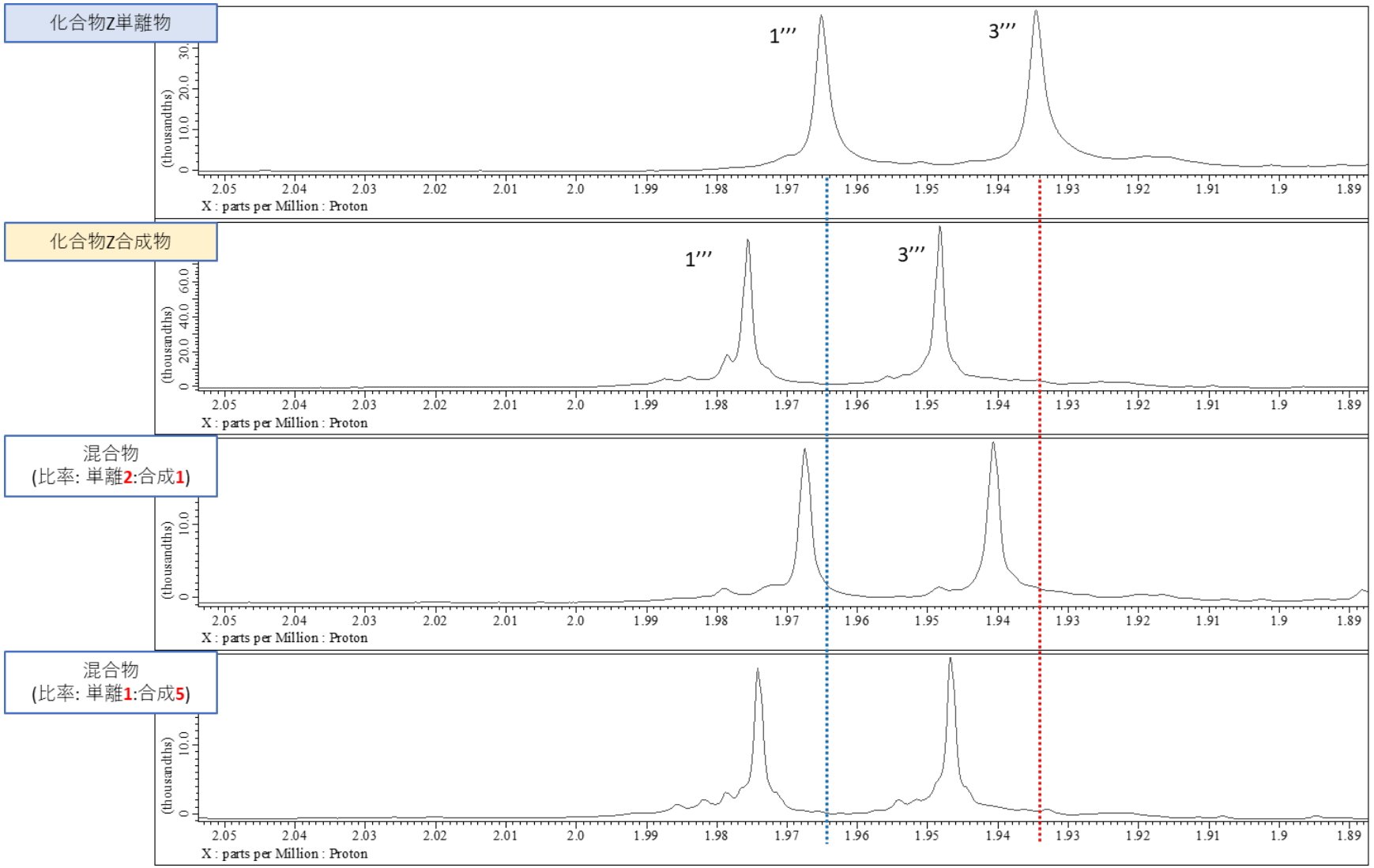
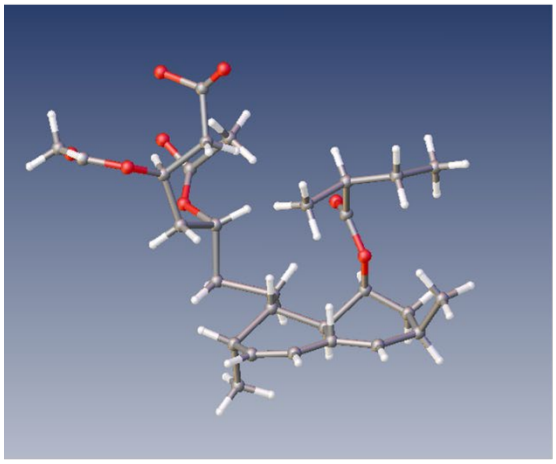
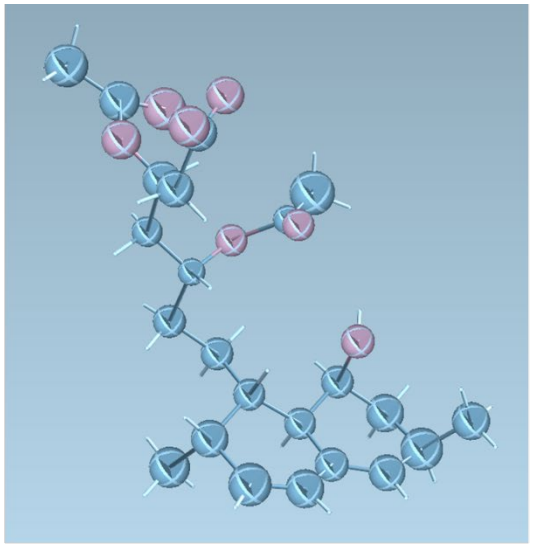


図 7-3 化合物 Z 混合溶液の ^{1}H-NMR 測定結果(拡大図 1.9 ppm-2.1 ppm)



化合物Y合成物



化合物Z合成物

図 8　化合物 Y 合成物及び化合物 Z 合成物のスポンジ結晶法による測定結果

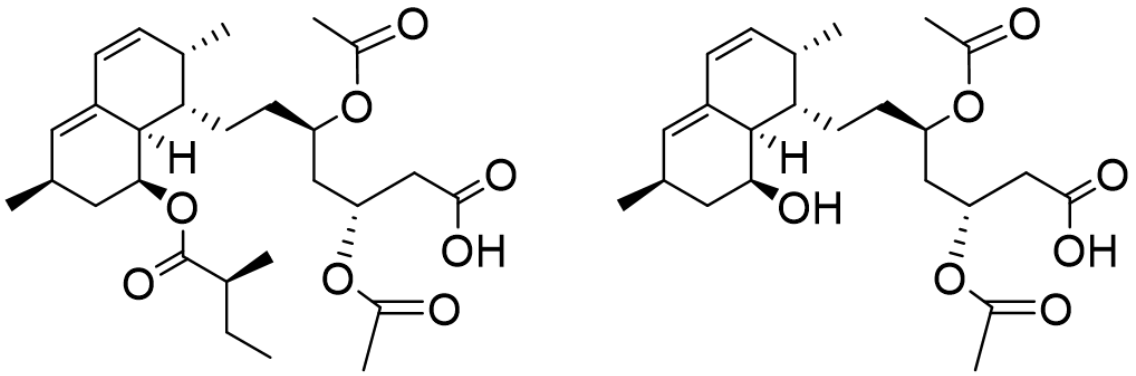


図 9　決定した化合物 Y 及び化合物 Z の構造式

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

	発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
1	登田美桜	諸外国の新規食品制度について	ファルマシア	60	926-930	2024
2	登田美桜, 市川範夫, 井上依子, 河恵子, 春田一絵, 與那覇ひとみ, 畝山智香子	食品安全情報（化学物質）」のトピックスについて－令和5年度（2023）	国立医薬品食品衛生研究所報告	142	54-62	2024
3	Tanaka S, Masumoto N, Makino T, Matsushima Y, Morikawa T, Ito M	Novel compounds isolated from health food products containing beni-koji (red yeast rice) with adverse event reports	J Nat Med	78	845-848	2024
4	Takayama T, Shingu A, Kato S, Nagatomo R, Tsutsumi T, Inoue K	Countermeasure for interfered monitoring ion of perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) from intrinsic food samples based on LC-MS/MS analysis of per- and polyfluoroalkyl substances	J. Food Compos. Anal.,	133	106436	2024
5	Yoshinari T, Watanabe M, Aoki W, Tanaka S, Masumoto N, Ito M, Ohnishi T	Mechanism of puberulic acid contamination in red yeast rice tablets that caused a serious food poisoning outbreak in Japan	Proc Jpn Acad Ser B	101	302-316	2025
6	Matsushita K, Tsuji G, Akane H, Ishii Y, Takasu S, Ogawa K, Ito T, Yokoo H, Sennari G, Iwatsuki M, Hirose T, Hanaki H, Demizu Y, Hirabayashi Y, Saito Y, Honma M, Toyoda T	A 28-day subacute toxicity study of puberulic acid in Crl:CD(SD) rats	J Toxicol Pathol (in press)			

令和７年３月３１日

厚生労働大臣　　殿

機関名　国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長　職　名　所長

氏　名　本間　正充

次の職員の令和６年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

１．研究事業名　　食品の安全確保推進研究事業

２．研究課題名　　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のための研究

３．研究者名　（所属部署・職名）　食品部・部長

（氏名・フリガナ）　堤　智昭・ツツミ　トモアキ

４．倫理審査の状況

	該当性の有無	左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
	有　無	審査済み	審査した機関	未審査（※2）
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（※3）	□　☑	□		□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□　☑	□		□
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	□　☑	□		□
その他、該当する倫理指針があれば記入すること（指針の名称：　　）	□　☑	□		□

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査に場合は、その理由を記載すること。
（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

５．厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☑　未受講 □

６．利益相反の管理

当研究機関におけるＣＯＩの管理に関する規定の策定	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究機関におけるＣＯＩ委員会設置の有無	有 ☑　無 □（無の場合は委託先機関：　　）
当研究に係るＣＯＩについての報告・審査の有無	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究に係るＣＯＩについての指導・管理の有無	有 □　無 ☑（有の場合はその内容：　　）

（留意事項）　・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和７年３月３１日

厚生労働大臣　　殿

機関名　国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長　職　名　所長

氏　名　本間　正充

次の職員の令和６年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

１．研究事業名　　食品の安全確保推進研究事業

２．研究課題名　　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のための研究

３．研究者名　（所属部署・職名）　食品部・第四室長

（氏名・フリガナ）　鈴木　美成・スズキ　ヨシナリ

４．倫理審査の状況

	該当性の有無	左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
	有　無	審査済み	審査した機関	未審査（※2）
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（※3）	□　☑	□		□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□　☑	□		□
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	□　☑	□		□
その他、該当する倫理指針があれば記入すること（指針の名称：　　）	□　☑	□		□

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査に場合は、その理由を記載すること。
（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

５．厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☑　未受講 □

６．利益相反の管理

当研究機関におけるＣＯＩの管理に関する規定の策定	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究機関におけるＣＯＩ委員会設置の有無	有 ☑　無 □（無の場合は委託先機関：　　）
当研究に係るＣＯＩについての報告・審査の有無	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究に係るＣＯＩについての指導・管理の有無	有 □　無 ☑（有の場合はその内容：　　）

（留意事項）　・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和７年３月３１日

厚生労働大臣　　殿

機関名　国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長　職　名　所長

氏　名　本間　正充

次の職員の令和６年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

１．研究事業名　　食品の安全確保推進研究事業

２．研究課題名　　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のための研究

３．研究者名　（所属部署・職名）　安全情報部・部長

（氏名・フリガナ）　登田　美桜・トダ　ミオウ

４．倫理審査の状況

	該当性の有無	左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
	有　無	審査済み	審査した機関	未審査（※2）
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（※3）	□　☑	□		□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□　☑	□		□
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	□　☑	□		□
その他、該当する倫理指針があれば記入すること（指針の名称：　　）	□　☑	□		□

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査に場合は、その理由を記載すること。
（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

５．厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☑　　未受講 □

６．利益相反の管理

当研究機関におけるＣＯＩの管理に関する規定の策定	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究機関におけるＣＯＩ委員会設置の有無	有 ☑　無 □（無の場合は委託先機関：　　）
当研究に係るＣＯＩについての報告・審査の有無	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究に係るＣＯＩについての指導・管理の有無	有 □　無 ☑（有の場合はその内容：　　）

（留意事項）　・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和７年２月２１日

厚生労働大臣　殿

機関名　国立大学法人東京大学
所属研究機関長　職　名　学長
氏　名　藤井　輝夫

次の職員の令和６年度厚生労働行政推進調査事業費補助金の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

１．研究事業名　　食品の安全確保推進研究事業

２．研究課題名　　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のための研究

３．研究者名　（所属部署・職名）　医学部附属病院・届出研究員

（氏名・フリガナ）　鹿嶋　晃平（カシマ　コウヘイ）

４．倫理審査の状況

	該当性の有無 有　無	左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
		審査済み	審査した機関	未審査（※2）
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（※3）	■　□	■	東京大学大学院医学系研究科・医学部倫理委員会　倫理委員会Ｂ	□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□　■	□		□
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	□　■	□		□
その他、該当する倫理指針があれば記入すること （指針の名称：　　）	□　■	□		□

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査に場合は、その理由を記載すること。
（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

５．厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ■　　未受講 □

６．利益相反の管理

当研究機関におけるＣＯＩの管理に関する規定の策定	有 ■　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究機関におけるＣＯＩ委員会設置の有無	有 ■　無 □（無の場合は委託先機関：　　）
当研究に係るＣＯＩについての報告・審査の有無	有 ■　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究に係るＣＯＩについての指導・管理の有無	有 □　無 ■（有の場合はその内容：　　）

（留意事項）　・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和７年３月３１日

厚生労働大臣　　殿

機関名　国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長　職　名　所長

氏　名　本間　正充

次の職員の令和６年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

１．研究事業名　　食品の安全確保推進研究事業

２．研究課題名　　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のための研究

３．研究者名　（所属部署・職名）　安全性生物試験研究センター・センター長

（氏名・フリガナ）　平林　容子・ヒラバヤシ　ヨウコ

４．倫理審査の状況

	該当性の有無	左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
	有　無	審査済み	審査した機関	未審査（※2）
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（※3）	□　☑	□		□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□　☑	□		□
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	□　☑	□		□
その他、該当する倫理指針があれば記入すること（指針の名称：　　）	□　☑	□		□

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査に場合は、その理由を記載すること。
（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

５．厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☑　　未受講 □

６．利益相反の管理

当研究機関におけるＣＯＩの管理に関する規定の策定	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究機関におけるＣＯＩ委員会設置の有無	有 ☑　無 □（無の場合は委託先機関：　　）
当研究に係るＣＯＩについての報告・審査の有無	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究に係るＣＯＩについての指導・管理の有無	有 □　無 ☑（有の場合はその内容：　　）

（留意事項）　・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和７年３月３１日

厚生労働大臣　　殿

機関名　国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長　職　名　所長

氏　名　本間　正充

次の職員の令和６年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

１．研究事業名　　食品の安全確保推進研究事業

２．研究課題名　　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のための研究

３．研究者名　（所属部署・職名）　生薬部・部長

（氏名・フリガナ）　伊藤　美千穂・イトウ　ミチホ

４．倫理審査の状況

	該当性の有無	左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
	有　無	審査済み	審査した機関	未審査（※2）
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（※3）	□　☑	□		□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□　☑	□		□
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	□　☑	□		□
その他、該当する倫理指針があれば記入すること（指針の名称：　　）	□　☑	□		□

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査に場合は、その理由を記載すること。
（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

５．厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☑　　未受講 □

６．利益相反の管理

当研究機関におけるＣＯＩの管理に関する規定の策定	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究機関におけるＣＯＩ委員会設置の有無	有 ☑　無 □（無の場合は委託先機関：　　）
当研究に係るＣＯＩについての報告・審査の有無	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究に係るＣＯＩについての指導・管理の有無	有 □　無 ☑（有の場合はその内容：　　）

（留意事項）　・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。