

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不可欠な分析法開発に関する研究
自動前処理装置を用いた食品中のダイオキシン類分析の検討

研究代表者 穂山 浩 国立医薬品食品衛生研究所食品部
研究分担者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所食品部

研究要旨

食品中のダイオキシン類分析の迅速化・省力化を目的として、自動前処理装置を用いた分析法を検討した。魚試料のアルカリ分解抽出液を硫酸処理し、自動前処理装置により精製した。ノンオルトPCBs及びPCDD/PCDFs分画については、一部のダイオキシン類異性体(1,2,3,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF)に夾雑物の影響が認められたため、自動前処理装置による精製を2回行った。自動前処理装置を用いてスズキとボラを分析し、従来法(オープンカラム精製)とダイオキシン類の各異性体濃度を比較した。自動前処理装置の各異性体濃度の平均値は、従来法に対してスズキで90~107%、ボラで97~111%であり良く一致していた。さらに、種々の魚試料(5種)を用いて自動前処理装置と従来法における異性体濃度の比較(各 $n=1$)を行った。自動前処理装置の異性体濃度は、殆どの異性体について従来法の $\pm 20\%$ 以内となった。また、これらの魚試料の毒性当量濃度についても比較した結果、自動前処理装置の各魚試料の毒性当量濃度は従来法に対して98~105%であった。次に、ヒラメを用いてダイオキシン類の添加回収試験を実施した結果、分析対象となる異性体における真度は90~106%、併行精度は0.9~5.7%と良好であった。さらに、認証標準試料(キングサーモン)を分析した結果、定量下限値以上となった異性体は全て認証値又は参考値の平均値 $\pm 2SD$ の範囲内であった。以上の結果から、ノンオルトPCBs及びPCDD/PCDFs分画については2回の精製が必要であったものの、自動前処理装置は魚中のダイオキシン類分析の迅速化・省力化に有効であると考えられた。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

足立利華、高附 巧、岡本悠佑、前田朋美
愛媛大学

川嶋文人

三浦工業株式会社

山本一樹、上田祐子

A. 研究目的

日本人におけるダイオキシン類(DXNs)の摂取は、そのほとんどが食事経路であり、我が国では魚介類を介した摂取が多い¹⁾。特に魚はDXNs濃度が他の食品と比較して高いことから、DXNs濃度を把握することが、リスク評価の観点から重要である。魚中のDXNs分析では、試料由来の種々の夾雑物を分解、除去するため、アルカリ分

解・溶媒抽出後にオープンカラムクロマトグラフィーによる精製が一般に行われる。しかし、種々のカラム充填剤を使用して精製することから精製工程は多段階にわたり、かつ手作業により行われることから、DXNs 分析に時間と労力を要することが課題となっている。また、カラムサイズが比較的大きいことから、使用する溶媒量が多く、環境や実験従事者へ与える負担も大きい。

近年開発された自動前処理装置(GO-EHT、三浦工業株式会社)は、専用の精製カラムを用いて試料溶液を自動で精製する。所要時間は約 1.5 時間であり、従来の手作業によるオープンカラム精製(以下、従来法)と比べると大幅な所要時間の短縮が可能である。また、従来法と比べ小型の精製カラムを用いることから、使用する溶媒量も従来法の 1/10 程度に削減できる。本自動前処理装置はヨーロッパを中心に食品試料への適用が行われているものの、本装置の DXNs 分析の性能評価データは非常に限られている。

本研究では食品中の DXNs 分析の迅速化・省力化を目的として、本自動前処理装置を使用した DXNs 分析法について検討する。昨年度に魚試料を用いて自動前処理装置の性能を予備検討した結果、一部の DXNs 異性体(1,2,3,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF)に夾雑物の影響が認められた²⁾。そこで本年度は、夾雑物の影響が認められたノンオルト PCBs 及び PCDD/PCDFs 分画について、自動前処理装置による精製を 2 回実施した。夾雑物の影響について検討した後、本条件により魚中の DXNs 分析の性能評価を実施した。

B. 研究方法

1. 試料

魚試料は関東地方の小売店で購入した。筋肉部をホモジナイザーで均一化し分析に供した。スズキとボラについては、凍結乾燥したものを使用した。

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. 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、BP-CP81、及び BP-MO 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。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 FAT-CS1~CS5 を購入した。

アセトン(DXNs 分析用)、メタノール(DXNs 分析用)、ジクロロメタン(DXNs 分析用)、水酸化カリウム(特級)、ヘキサン(DXNs 分析用)、トルエン(DXNs 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(DXNs 分析用)、硫酸(特級)、塩化ナトリウム(特級)は和光純薬(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の洗浄し使用した。

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カラムは関東化学(株)より購入した。自動前処理装置用に使用する精製カラム(標準タイプ 20 φ)は三浦工業株式会社より購入した。精製カラ

ムとして、10%硝酸銀シリカゲルカラム、44%硫酸シリカゲルカラム、炭素系カラム、及びアルミナカラムが含まれている。

GC キャピラリーカラムは、DB-5ms、DB-17 をアジレント・テクノロジー株式会社より、HT8 をSGE ジャパン(現トレイジャンサイエンティフィック ジャパン)より購入した。

3. 機器

ホモジナイザー: レッチェ社製 GM200

自動前処理装置: (GO-EHT、三浦工業株式会社)

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

4. 試験溶液の調製

4.1 アルカリ分解・溶媒抽出

均一化した試料 40 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。得られたヘキサン層を抽出液とした。

4.2 オープンカラムによる精製(従来法)

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、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、シリジンスパイク 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。

4.3 自動前処理装置(GO-EHT)による精製

ヘキサン層の入った分液漏斗に濃硫酸を約 20 mL 加え、緩やかに振とうし、静置後、硫酸層を除去した。同様の操作を 3 回繰り返した。その後、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した。溶媒を留去し 1 mL 程度に濃縮した後、自動前処理装置に装着した精製カラム(標準タイプ 20 ϕ) に負荷した。精製カラムは上から順に、硝酸銀シリカゲルカラム、硫酸シリカゲルカラム、炭素系カラム、及びアルミナカラムを連結させた。ヘキサン 90 mL をカラムに通液後、逆方向からトルエンを送液した。アルミナカラムからトルエン約 1.0 mL でモノオルト PCBs 分画を溶出した。炭素系カラムからトルエン約 1.2 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 分画については再度、自動前処理装置による精製を行った。当該分画にデカン 200 μ L をキーパーとして添加した後、溶媒を留去した。少量のヘキサンを添加し、溶媒を留去する操作を 3 回繰り返した後、ヘキサン 1-2 mL を加え、自動前処理装置に装着した精製カラム(標準タイプ 20 ϕ)に負荷した。ヘキサン 90 mL をカラムに通液後、逆方向からトルエンを送液した。炭素系カラムからトルエン約 1.2 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 μ L(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。

5. 高分解能 GC/MS 測定

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 \times 60 m、膜厚 0.25 μ m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:250 $^{\circ}\text{C}$

注入量:1.5 μ L

昇温条件:130 $^{\circ}\text{C}$ (2 分保持)-30 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -200 $^{\circ}\text{C}$ -5 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -220 $^{\circ}\text{C}$ (16 分保持)-6 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -300 $^{\circ}\text{C}$ (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 \times 60 m、膜厚 0.25 μ m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:250 $^{\circ}\text{C}$

注入量:2.0 μ L

昇温条件:130 $^{\circ}\text{C}$ (2 分保持)-30 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -200 $^{\circ}\text{C}$ -3 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -280 $^{\circ}\text{C}$ (30 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム(流速:1.5 mL/分)

③Co-PCBs

カラム:HT8(内径 0.22 mm \times 50 m、膜厚 0.25 μ m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260 $^{\circ}\text{C}$

注入量:1.5 μ L

昇温条件:130 $^{\circ}\text{C}$ (1 分保持)-15 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -220 $^{\circ}\text{C}$ (5 分保持)-2 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -300 $^{\circ}\text{C}$ (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 $^{\circ}\text{C}$

イオン源温度:280 $^{\circ}\text{C}$

イオン化法:EI ポジティブ

イオン化電圧:38 eV

イオン化電流:600 μ A

加速電圧:~10.0 kV

分解能:10,000 以上

モニターイオン:食品中の DXNs 分析の暫定ガイドライン³⁾(以下、ガイドライン)に従った。

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高分解能 GC/MS により測定し、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。また、操作ブランク試験を 6 回行い、ブランクが認められる DXNs 異性体については、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。

C. 研究結果及び考察

1)ノンオルト PCBs 及び PCDD/PCDFs 分画における夾雑物の影響の低減

昨年度に自動前処理装置を用いて魚試料を分析した結果、下記 2 点の夾雑物の影響が認めら

れた。

①1,2,3,7,8-PeCDF に夾雑物のピークが重なった。

②1,2,3,4,7,8-HxCDF の分析値が従来法より大きくなった(1.2倍以上)。

そこで、夾雑物の影響が認められたノンオルト PCBs 及び PCDD/PCDFs 分画を自動前処理装置により 2 回精製することで、夾雑物の影響を低減することが可能か検討した。スズキとボラ(湿重量 40g 相当)について自動前処理装置により1回精製、2 回精製した SIM クロマトグラムと分析値(1,2,3,7,8-PeCDF 及び 1,2,3,4,7,8-HxCDF)を [図1](#)及び[図2](#)に示した。また、従来法のクロマトグラムと分析値も併せて示した。スズキとボラの両方において、自動前処理装置による 1 回精製では対象となる 1,2,3,7,8-PeCDF のピーク(図中の矢印)に夾雑物のピークが重なっているが、2 回精製することで夾雑物のピークの重なりは認められなくなった([図 1\(a\)](#)、[図 2\(a\)](#))。また、1,2,3,4,7,8-HxCDF の分析値(図中の括弧内の数字)についても、自動前処理装置による 1 回精製では従来法と比較すると2倍前後の高値が得られているが、2 回精製することで従来法の分析値に近い値となった([図 1\(b\)](#)、[図 2\(b\)](#))。以上の結果から、ノンオルト PCBs 及び PCDD/PCDFs 分画を自動前処理装置により2回精製すれば、夾雑物の影響を受けることなく DXNs 分析が可能であると考えられた。

2) 自動前処理装置と従来法の DXNs 異性体濃度の比較

自動前処理装置と従来法によりスズキとボラ(各 $n = 5$)を分析し、DXNs の各異性体濃度を比較した([表 1](#))。自動前処理装置の各異性体濃度の平均値は、従来法に対してスズキで 90~107%、ボラで 97~111%であり良く一致していた。また、RSD もスズキで 12%以内、ブリで 12%以内であり、従来法(スズキで 9.3%以内、ボラで 16%以内)と比較して顕著に大きな値となることはなかった。

クリーンアップスパイク(CS)の回収率を[図 3](#)に示した。自動前処理装置の CS の回収率は、スズキで 43~100%、ボラで 43~93%あり、ガイドラインの許容範囲(40~120%)に収まった。従来法の CS の回収率(スズキで 59~113%、ボラで 52~103%)と比較すると、自動前処理装置の CS の回収率は全体的にやや低値となった。今回、自動前処理装置の精製回数を 2 回としたことから、CS の回収率が通常(精製回数 1 回)よりも低下していると考えられる。特に、OCDF と Co-PCBs である#77 の CS の回収率が 50%を下回ることがあり注意を要した。

スズキとボラについて、自動前処理装置と従来法の SIM クロマトグラムの一例を[図 4](#)及び[図 5](#)に示した。PCDDs 及び Co-PCBs については、自動前処理装置と従来法の SIM クロマトグラムには大きな違いは認められなかった。一方で、自動前処理装置の PCDFs の SIM クロマトグラムには、従来法では認められない夾雑物のピークが多数認められた。PCDFs を含む分画については自動前処理装置で精製を 2 回実施したものの、従来法と比較すると夾雑物の含有が多いと考えられた。特に、スズキよりもボラで従来法と比較して多くの夾雑物のピークが認められたことから、夾雑物の含有量は魚種や、魚の生育環境などに影響をうけるものと考えられた。今回観察された夾雑物のピークは DXNs の定量に影響することはなかったものの、汚染の著しい地域で生育した魚は夾雑物が多くなると考えられるため、夾雑物の影響については引き続き注意が必要であると考えられる。また、これらの夾雑物については明らかではないが、本多らはポリ塩素化ジフェニルエーテルが PCDFs の SIM クロマトグラム上で妨害となることを報告している⁴⁾。ポリ塩素化ジフェニルエーテルは環境試料中に広く存在し、魚介類にも存在することが報告されていることから⁵⁾、今回認められた夾雑物ピークの原因として有力である。

3) 自動前処理装置の種々の魚試料への適用性の検討

魚試料に含まれる夾雑物の種類や量は、魚種によっても異なると考えられる。そこで、日本で消費量が比較的多いと考えられる魚 5 種(サーモン、アジ、ブリ、サバ、マグロ)を用いて自動前処理装置の適用性を検討した。自動前処理装置を用いて 5 種の魚(各 $n = 1$)を分析し、従来法の DXNs の異性体濃度と比較した(表 2)。自動前処理装置の異性体濃度は、従来法に対して $\pm 20\%$ 以内となる場合が殆どであり、概してよく一致していた。表中に二重下線で示した 6 つの異性体濃度が、従来法に対して $\pm 20\%$ を超えたものの、これらは比較的低濃度であったことから、分析値のバラツキが大きく影響しているものと考えられた。また、図 6 には、5 種の魚試料の CS の回収率を示した。ガイドラインの許容範囲(40~120%)に収まったものの、自動前処理装置の CS 回収率は従来法と比較すると全体的に低く、一部の試料では許容範囲の下限值付近となるため注意を要した。

自動前処理装置と従来法の SIM クロマトグラム(1,2,3,7,8-PeCDF)の一例を図 7 に示した。前述したスズキ及びボラと同様に、検討した 5 種の魚についても 1,2,3,7,8-PeCDF を妨害する夾雑物のピークは認められなかった。また、前述したボラでは、自動前処理装置の PCDFs の SIM クロマトグラムに従来法と比較して多数の夾雑物のピークが認められたが、検討した 5 種の魚試料では自動前処理装置と従来法の SIM クロマトグラムに顕著な違いは認められなかった。これらの 5 種の魚試料については、自動前処理装置により SIM クロマトグラムに影響する夾雑物が効果的に除かれたと考えられた。

DXNs 全体のリスク評価やリスク管理のためには、毒性当量濃度が用いられる。自動前処理装置と従来法により分析した 5 種の魚試料の毒性当量濃度を比較した(図 8)。自動前処理装置の各魚試料の毒性当量濃度は、従来法に対して 98~105%であり、非常に良く一致していた。毒性当量濃度に大きな割合を占めていた異性体(1,2,3,7,8-PeCDD、2,3,7,8-TCDF、2,3,4,7,8-

PeCDF、#126)について、自動前処理装置と従来法で分析値が非常に良く一致していたためだと考えられた。

4) 魚試料に対する DXNs の添加回収試験

前述した 2)及び 3)では、DXNs に天然汚染された魚試料を用いて自動前処理装置の DXNs の分析性能を評価した。しかし、LOQ 未満となる異性体(1,2,3,7,8,9-HxCDD、123789-HxCDF、1234789-HpCDF、OCDF)があり、それらの異性体の分析性能を評価することは困難であった。そこで、DXNs を添加した試料を作製し、それを用いて分析対象となる全異性体の分析性能(真度、併行精度)を評価した。ヒラメに既知濃度の DXNs を添加し、5 併行で分析した際の真度及び併行精度を表 3 に示した。真度は 90~106%、併行精度は 5.7%以下であり、全異性体について良好な結果であった。

5) 認証標準試料の分析

DXNs 濃度が付与されている認証標準試料(WMF-01)を自動前処理装置で分析した結果を表 4 に示した。認証値が付与されている異性体については、全ての異性体で LOQs 以上の値が得られ、認証値の平均値 $\pm 2SD$ の範囲内であった。また、LOQs 以上となったその他の異性体についても、参考値の平均値 $\pm 2SD$ の範囲内であった。これらの結果から、自動前処理装置を用いた DXNs 分析により得られた分析結果の信頼性は高いことが確認できた。

D. 結論

ノオルト PCBs 及び PCDD/PCDFs 分画を自動前処理装置により 2 回精製することで、夾雑物の影響を受けることなく DXNs 分析が可能であった。魚試料を使用した従来法との比較試験、添加回収試験、及び認証標準試料の分析から、自動前処理装置を用いた DXNs 分析の信頼性は高いと考えられた。自動前処理装置を用いた精

製は、所要時間が 4 時間程度、溶媒使用量も少量(ヘキサン約 250 mL、トルエン約 50 mL)であったことから、魚中の DNXs 分析の迅速化・省力化に有用であると考えられる。

2. 学会発表
なし

E. 参考文献

- 1) Tsutsumi T, Matsuda R, Yanagi T, Iizuka S, Isagawa S, Takatsuki S, Watanabe T, Teshima R, Akiyama H. : Dietary intake of dioxins in Japan in 2016 with time trends since 1998. Food Additives & Contaminants: Part A, 35, 1553–1564 (2018)
- 2) 令和元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)
- 3) 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
- 4) 本多 隆, 植野康成, 馬場強三, 益田 宣: ダイオキシン類分析における妨害物質である ポリ塩素化ジフェニルエーテル類の除去方法の検討. 長崎県衛生公害研究所報 50, 10–17 (2004)
- 5) Martí-Cid R, Llobet JM, Castell V, Domingo JL. : Human exposure to polychlorinated naphthalenes and polychlorinated diphenyl ethers from foods in Catalonia, Spain: temporal trend, Environ Sci Technol., 42, 4195–4201 (2008)

F. 研究業績

1. 論文発表
なし

表 1 スズキとボラにおける自動前処理装置と従来法の DXNs 異性体濃度の比較

| DXNs | スズキ (n = 5) | | | | | | | ボラ (n = 5) | | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|------------------|-----------------|---------------|----------------|-------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------|----------------|-----|--|
| | LOQ pg/g | 自動前処理装置 (A) | | 従来法 (B) | | 比率, % (A/B) | LOQ pg/g | 自動前処理装置 (A) | | 従来法 (B) | | 比率, % (A/B) | | |
| | | Mean ± SD, pg/g | RSD, % | Mean ± SD, pg/g | RSD, % | | | Mean ± SD, pg/g | RSD, % | Mean ± SD, pg/g | RSD, % | | | |
| PCDDs | 2378-TeCDD | 0.015 | 0.42 ± 0.035 | 8.5 | 0.40 ± 0.025 | 6.3 | 104 | 0.013 | 0.24 ± 0.024 | 9.8 | 0.25 ± 0.024 | 9.7 | 97 | |
| | 12378-PeCDD | 0.044 | 0.70 ± 0.066 | 9.4 | 0.70 ± 0.042 | 5.9 | 100 | 0.036 | 0.43 ± 0.018 | 4.2 | 0.41 ± 0.029 | 7.1 | 104 | |
| | 123478-HxCDD | 0.11 | 0.11 ± 0.00825 | 7.4 | 0.12 ± 0.0092 | 7.5 | 90 | 0.089 | 0.089 ± 0.00648 | 7.3 | 0.091 ± 0.008 | 9.3 | 98 | |
| | 123678-HxCDD | 0.11 | 0.55 ± 0.040 | 7.4 | 0.55 ± 0.039 | 7.1 | 100 | 0.093 | 0.21 ± 0.0058 | 2.7 | 0.21 ± 0.021 | 10.2 | 102 | |
| | 123789-HxCDD | 0.074 | nd ¹⁾ | - | nd | - | - | 0.061 | tr ²⁾ | - | tr | - | - | |
| | 1234678-HpCDD | 0.063 | 0.17 ± 0.007 | 4.3 | 0.18 ± 0.012 | 6.4 | 92 | 0.052 | 0.16 ± 0.014 | 9.1 | 0.16 ± 0.017 | 10.9 | 100 | |
| | OCDD | 0.045 | 0.34 ± 0.040 | 11.7 | 0.33 ± 0.030 | 9.3 | 104 | 0.037 | 0.23 ± 0.024 | 10.4 | 0.24 ± 0.016 | 6.7 | 97 | |
| PCDFs | 2378-TeCDF | 0.031 | 2.2 ± 0.056 | 2.5 | 2.2 ± 0.10 | 4.6 | 101 | 0.026 | 1.8 ± 0.067 | 3.6 | 1.9 ± 0.07 | 3.7 | 97 | |
| | 12378-PeCDF | 0.013 | 0.38 ± 0.034 | 9.0 | 0.37 ± 0.010 | 2.7 | 102 | 0.011 | 0.20 ± 0.017 | 8.4 | 0.19 ± 0.022 | 11.6 | 106 | |
| | 23478-PeCDF | 0.013 | 1.7 ± 0.074 | 4.2 | 1.7 ± 0.072 | 4.1 | 100 | 0.011 | 0.88 ± 0.041 | 4.7 | 0.84 ± 0.065 | 7.7 | 105 | |
| | 123478-HxCDF | 0.018 | 0.14 ± 0.015 | 10.7 | 0.14 ± 0.0078 | 5.7 | 105 | 0.015 | 0.096 ± 0.0072 | 7.5 | 0.087 ± 0.014 | 16.2 | 111 | |
| | 123678-HxCDF | 0.024 | 0.13 ± 0.012 | 9.3 | 0.14 ± 0.0084 | 6.0 | 92 | 0.019 | 0.075 ± 0.00858 | 11.4 | 0.073 ± 0.0077 | 10.6 | 104 | |
| | 123789-HxCDF | 0.045 | nd | - | nd | - | - | 0.037 | nd | - | nd | - | - | |
| | 234678-HxCDF | 0.12 | 0.23 ± 0.0078 | 3.4 | 0.22 ± 0.014 | 6.4 | 106 | 0.095 | 0.11 ± 0.013 | 11.8 | 0.11 ± 0.0091 | 8.3 | 102 | |
| | 1234678-HpCDF | 0.059 | tr | - | tr | - | - | 0.048 | tr | - | tr | - | - | |
| | 1234789-HpCDF | 0.072 | nd | - | nd | - | - | 0.059 | nd | - | nd | - | - | |
| | OCDF | 0.13 | nd | - | nd | - | - | 0.11 | nd | - | nd | - | - | |
| ハノオルトPCBs | 33'44'-TeCB (#77) | 0.23 | 578 ± 5.8 | 3.1 | 577 ± 34 | 5.9 | 100 | 0.19 | 179 ± 6.4 | 3.6 | 172 ± 6.2 | 3.6 | 104 | |
| | 344'5'-TeCB (#81) | 0.16 | 21.3 ± 0.40 | 5.9 | 21.8 ± 1.2 | 5.4 | 98 | 0.13 | 16 ± 0.95 | 5.8 | 15.8 ± 0.85 | 5.3 | 104 | |
| | 33'44'5'-PeCB (#126) | 0.050 | 59 ± 1.5 | 2.3 | 61 ± 2.6 | 4.3 | 98 | 0.041 | 26 ± 1.3 | 5.1 | 25 ± 0.85 | 3.4 | 102 | |
| | 33'44'55'-HxCB (#169) | 0.15 | 7.0 ± 0.20 | 5.8 | 6.9 ± 0.21 | 3.0 | 101 | 0.12 | 1.7 ± 0.049 | 2.9 | 1.7 ± 0.10 | 6.0 | 99 | |
| モノオルトPCBs | 233'44'-PeCB (#105) | 1.1 | 8061 ± 170 | 2.3 | 8016 ± 209 | 2.6 | 101 | 0.88 | 2669 ± 65 | 2.4 | 2594 ± 89 | 3.4 | 103 | |
| | 2344'5'-PeCB (#114) | 1.3 | 539 ± 10 | 3.5 | 522 ± 17 | 3.3 | 103 | 1.1 | 170 ± 8.5 | 5.0 | 168 ± 5.6 | 3.3 | 101 | |
| | 2'344'5'-PeCB (#118) | 1.5 | 29815 ± 580 | 4.3 | 27933 ± 724 | 2.6 | 107 | 1.2 | 8657 ± 252 | 2.9 | 8451 ± 234 | 2.8 | 102 | |
| | 2'344'5'-PeCB (#123) | 1.3 | 472 ± 25 | 3.7 | 454 ± 24 | 5.3 | 104 | 1.1 | 154 ± 5.9 | 3.8 | 151 ± 8.2 | 5.4 | 102 | |
| | 233'44'5'-HxCB (#156) | 2.8 | 2277 ± 64 | 2.2 | 2210 ± 108 | 4.9 | 103 | 2.3 | 796 ± 31 | 3.9 | 778 ± 15.4 | 2.0 | 102 | |
| | 233'44'5'-HxCB (#157) | 2.7 | 513 ± 15 | 4.3 | 513 ± 24 | 4.7 | 100 | 2.2 | 200 ± 12 | 6.1 | 196 ± 7.1 | 3.6 | 102 | |
| | 23'44'55'-HxCB (#167) | 2.9 | 1178 ± 25 | 2.6 | 1124 ± 41 | 3.6 | 105 | 2.4 | 395 ± 15 | 3.9 | 397 ± 9.1 | 2.3 | 100 | |
| | 233'44'55'-HpCB (#189) | 3.4 | 146 ± 4.0 | 1.5 | 146 ± 2.0 | 1.4 | 100 | 2.8 | 56 ± 3.1 | 5.6 | 55 ± 1.5 | 2.7 | 100 | |

1) nd: not detected

2) tr: trace (LOD ≤ tr < LOQ)

表 2 種々の魚試料における自動前処理装置と従来法の DXNs 異性体濃度の比較

| DXNs | LOQ pg/g | DXNs (pg/g) | | | | | | | | | | |
|-----------|------------------------|-------------|------------------|---------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|
| | | サーモン | | アジ | | ブリ | | サバ | | マグロ | | |
| | | 自動前処理装置 | 従来法 | 自動前処理装置 | 従来法 | 自動前処理装置 | 従来法 | 自動前処理装置 | 従来法 | 自動前処理装置 | 従来法 | |
| PCDDs | 2378-TeCDD | 0.0031 | 0.052 | 0.047 | 0.054 | 0.047 | 0.060 | 0.056 | 0.11 | 0.11 | 0.14 | 0.15 |
| | 12378-PeCDD | 0.0089 | 0.083 | 0.086 | 0.11 | 0.10 | 0.14 | 0.16 | 0.23 | 0.21 | 0.28 | 0.24 |
| | 123478-HxCDD | 0.022 | ND ¹⁾ | ND | Tr ²⁾ | Tr | 0.026 | 0.028 | 0.029 | 0.028 | Tr | Tr |
| | 123678-HxCDD | 0.023 | 0.044 | 0.044 | 0.032 | 0.032 | 0.052 | 0.047 | 0.055 | 0.052 | <u>0.10</u> | <u>0.076</u> |
| | 123789-HxCDD | 0.015 | ND | ND | Tr | Tr | Tr | Tr | Tr | 0.018 | ND | ND |
| | 1234678-HpCDD | 0.013 | ND | ND | 0.033 | 0.030 | <u>0.043</u> | <u>0.029</u> | <u>0.031</u> | <u>0.019</u> | ND | Tr |
| | OCDD | 0.0092 | ND | ND | 0.075 | 0.092 | 0.10 | 0.090 | 0.023 | 0.021 | ND | ND |
| PCDFs | 2378-TeCDF | 0.0064 | 1.7 | 1.5 | 0.54 | 0.59 | 1.1 | 1.2 | 1.9 | 2.1 | 1.6 | 1.6 |
| | 12378-PeCDF | 0.0027 | 0.12 | 0.13 | 0.10 | 0.10 | 0.18 | 0.19 | 0.29 | 0.33 | 0.22 | 0.21 |
| | 23478-PeCDF | 0.0027 | 0.40 | 0.38 | 0.29 | 0.26 | 0.44 | 0.43 | 1.3 | 1.3 | 0.72 | 0.69 |
| | 123478-HxCDF | 0.0037 | 0.015 | 0.018 | <u>0.021</u> | <u>0.015</u> | 0.042 | 0.045 | 0.079 | 0.066 | 0.042 | 0.036 |
| | 123678-HxCDF | 0.0049 | 0.023 | 0.020 | <u>0.018</u> | <u>0.024</u> | 0.029 | 0.027 | 0.083 | 0.078 | 0.054 | 0.053 |
| | 123789-HxCDF | 0.0093 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | 234678-HxCDF | 0.024 | 0.026 | 0.031 | Tr | Tr | <u>0.033</u> | <u>0.027</u> | 0.11 | 0.12 | 0.044 | 0.038 |
| | 1234678-HpCDF | 0.012 | ND | Tr | Tr | Tr | Tr | 0.015 | 0.023 | 0.023 | ND | Tr |
| | 1234789-HpCDF | 0.015 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | OCDF | 0.026 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| ノンホルトPCBs | 33'44'-TeCB (#77) | 0.046 | 27 | 26 | 23 | 22 | 33 | 34 | 40 | 41 | 92 | 88 |
| | 344'5'-TeCB (#81) | 0.034 | 1.0 | 1.0 | 2.1 | 2.1 | 2.2 | 2.3 | 4.8 | 4.6 | 6.1 | 6.06 |
| | 33'44'5'-PeCB (#126) | 0.010 | 10 | 9.1 | 12 | 12 | 15 | 15 | 20 | 20 | 36 | 37 |
| | 33'44'55'-HxCB (#169) | 0.030 | 1.4 | 1.4 | 2.3 | 2.3 | 2.2 | 2.2 | 4.6 | 5.0 | 6.3 | 6.44 |
| | 233'44'-PeCB (#105) | 0.22 | 604 | 629 | 406 | 406 | 468 | 459 | 348 | 381 | 1604 | 1565 |
| モノホルトPCBs | 2344'5'-PeCB (#114) | 0.26 | 38 | 37 | 33 | 33 | 37 | 36 | 36 | 36 | 94 | 96 |
| | 23'44'5'-PeCB (#118) | 0.31 | 1862 | 1844 | 1489 | 1514 | 1775 | 1727 | 1201 | 1199 | 4977 | 4801 |
| | 2'344'5'-PeCB (#123) | 0.26 | 25 | 25 | 25 | 26 | 29 | 29 | 24 | 26 | 89 | 94 |
| | 233'44'5'-HxCB (#156) | 0.58 | 161 | 161 | 178 | 170 | 237 | 220 | 151 | 156 | 621 | 622 |
| | 233'44'5'-HxCB (#157) | 0.55 | 46 | 44 | 45 | 45 | 57 | 59 | 49 | 49 | 173 | 162 |
| | 23'44'55'-HxCB (#167) | 0.60 | 99 | 94 | 100 | 101 | 139 | 138 | 84 | 85 | 357 | 377 |
| | 233'44'55'-HpCB (#189) | 0.69 | 12 | 13 | 24 | 25 | 36 | 36 | 29 | 32 | 66 | 68 |

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

表 3 魚試料(ヒラメ)を用いた添加回収試験結果

| DXNs | ヒラメ (n = 5) | | | |
|---------------|-------------------------|-----|--------|-----|
| | 添加濃度 | 真度 | 併行精度 | |
| | pg/g | % | RSD, % | |
| PCDDs | 2378-TeCDD | 1 | 104 | 5.0 |
| | 12378-PeCDD | 1 | 106 | 3.0 |
| | 123478-HxCDD | 2 | 101 | 2.4 |
| | 123678-HxCDD | 2 | 103 | 2.7 |
| | 123789-HxCDD | 2 | 94 | 3.5 |
| | 1234678-HpCDD | 2 | 102 | 2.7 |
| | OCDD | 5 | 95 | 3.6 |
| PCDFs | 2378-TeCDF | 1 | 97 | 4.4 |
| | 12378-PeCDF | 1 | 99 | 2.2 |
| | 23478-PeCDF | 1 | 101 | 4.3 |
| | 123478-HxCDF | 2 | 92 | 2.8 |
| | 123678-HxCDF | 2 | 102 | 2.8 |
| | 123789-HxCDF | 2 | 101 | 1.9 |
| | 234678-HxCDF | 2 | 100 | 1.9 |
| | 1234678-HpCDF | 2 | 103 | 2.5 |
| | 1234789-HpCDF | 2 | 100 | 1.7 |
| | OCDF | 5 | 100 | 3.4 |
| ナンオルト PCBs | 33'44'-TeCB (#77) | 10 | 99 | 2.5 |
| | 344'5'-TeCB (#81) | 10 | 99 | 1.0 |
| | 33'44'5'-PeCB (#126) | 10 | 100 | 3.2 |
| | 33'44'55'-HxCB (#169) | 10 | 90 | 5.7 |
| モノオルトPCBs | 233'44'-PeCB (#105) | 200 | 98 | 3.0 |
| | 2344'5'-PeCB (#114) | 200 | 98 | 2.1 |
| | 23'44'5'-PeCB (#118) | 200 | 102 | 2.8 |
| | 2'344'5'-PeCB (#123) | 200 | 98 | 2.7 |
| | 233'44'5'-HxCB (#156) | 200 | 100 | 2.5 |
| | 233'44'5'5'-HxCB (#157) | 200 | 97 | 0.9 |
| | 23'44'55'-HxCB (#167) | 200 | 96 | 2.0 |
| | 233'44'55'-HpCB (#189) | 200 | 98 | 3.4 |

表 4 自動前処理装置を用いた認証標準試料(WMF-01)の分析結果

| DXNs | 認証値(*参考値) ¹⁾ | | 分析結果 |
|---------------|-------------------------|----------------|-----------------------|
| | pg/g | | pg/g |
| PCDDs | 2378-TeCDD | 13.1 ± 4.4 | 13.1 |
| | 12378-PeCDD | 2.72 ± 1.3 | 2.39 |
| | 123478-HxCDD | 0.22 * ± 0.3 | - ²⁾ |
| | 123678-HxCDD | 0.88 ± 0.4 | 0.92 |
| | 123789-HxCDD | 0.27 * ± 0.4 | (0.080) ³⁾ |
| | 1234678-HpCDD | 0.59 * ± 0.7 | 0.29 |
| | OCDD | 3.91 * ± 6.2 | 0.68 |
| PCDFs | 2378-TeCDF | 13.1 ± 4.9 | 13.2 |
| | 12378-PeCDF | 1.53 * ± 1.4 | 0.95 |
| | 23478-PeCDF | 7.15 ± 2.2 | 6.89 |
| | 123478-HxCDF | 0.86 * ± 1.0 | 0.53 |
| | 123678-HxCDF | 0.51 * ± 0.7 | 0.25 |
| | 123789-HxCDF | 0.25 * ± 0.4 | - |
| | 234678-HxCDF | 0.68 * ± 1.2 | (0.23) |
| | 1234678-HpCDF | 1.01 * ± 1.9 | 0.12 |
| | 1234789-HpCDF | 0.30 * ± 0.5 | - |
| | OCDF | 1.38 * ± 2.1 | - |
| ナンオルト PCBs | 33'44'-TeCB (#77) | 2233 ± 720 | 2176 |
| | 344'5-TeCB (#81) | 201 ± 58 | 207 |
| | 33'44'5-PeCB (#126) | 739 ± 260 | 776 |
| | 33'44'55'-HxCB (#169) | 76 ± 30 | 62 |
| モノオルトPCBs | 233'44'-PeCB (#105) | 49050 ± 14200 | 61142 |
| | 2344'5-PeCB (#114) | 3523 ± 1670 | 4101 |
| | 2'344'5-PeCB (#118) | 130100 ± 32500 | 148904 |
| | 2'344'5-PeCB (#123) | 4233 ± 2620 | 4515 |
| | 233'44'5-HxCB (#156) | 14890 ± 5020 | 18677 |
| | 233'44'5'-HxCB (#157) | 3488 ± 870 | 4280 |
| | 23'44'55'-HxCB (#167) | 9750 ± 3090 | 11178 |
| | 233'44'55'-HpCB (#189) | 2016 ± 611 | 2397 |

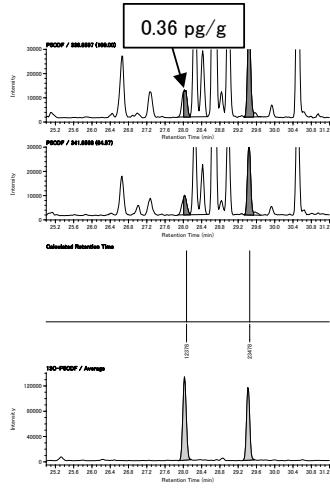
1) 平均値±2SD

2) LOD未満

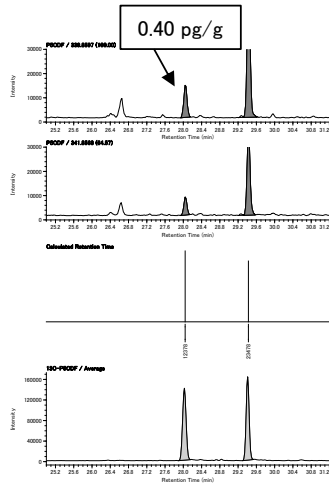
3) LOD以上LOQ未満

(a) 1,2,3,7,8-PeCDF (DB-5ms)

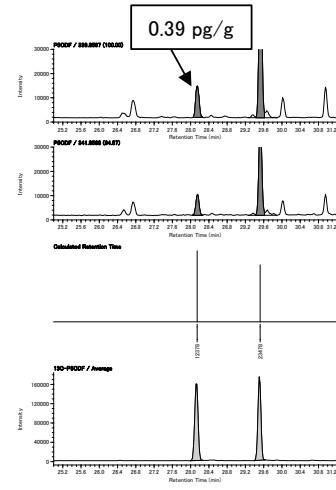
自動前処理装置(1回精製)



自動前処理装置(2回精製)

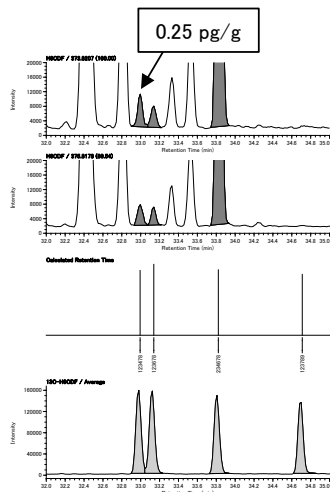


従来法

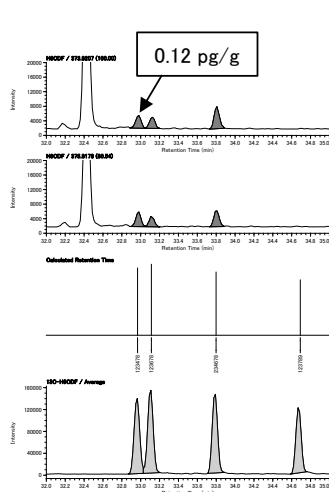


(b) 1,2,3,4,7,8-HxCDF (DB-5ms)

自動前処理装置(1回精製)



自動前処理装置(2回精製)



従来法

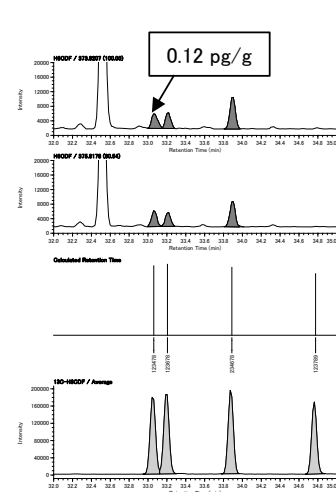
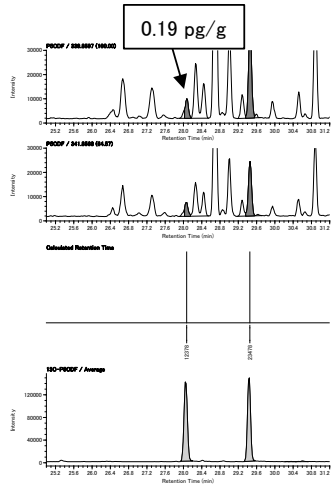


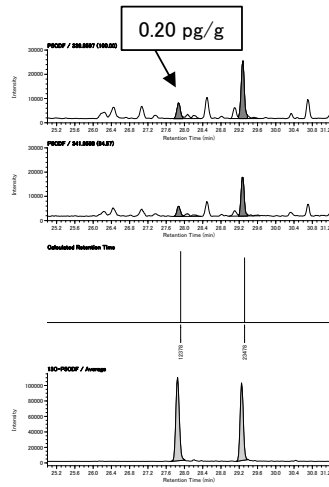
図 1 各精製方法における SIM クロマトグラムと分析値(スズキ)

(a) 1,2,3,7,8-PeCDF (DB-5ms)

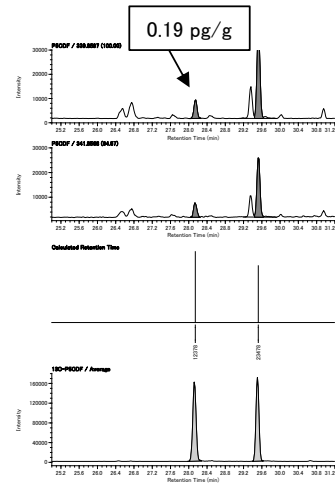
自動前処理装置 (1回精製)



自動前処理装置 (2回精製)

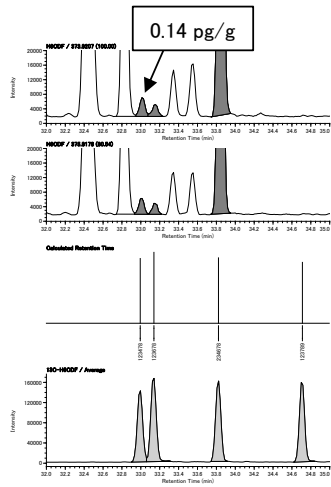


従来法

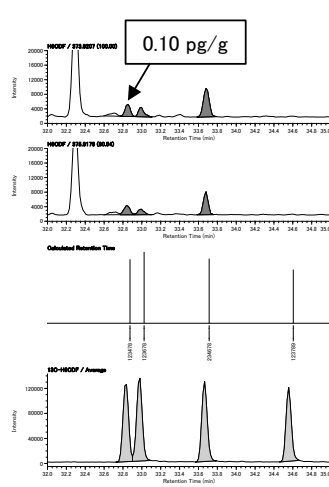


(b) 1,2,3,4,7,8-HxCDF (DB-5ms)

自動前処理装置 (1回精製)



自動前処理装置 (2回精製)



従来法

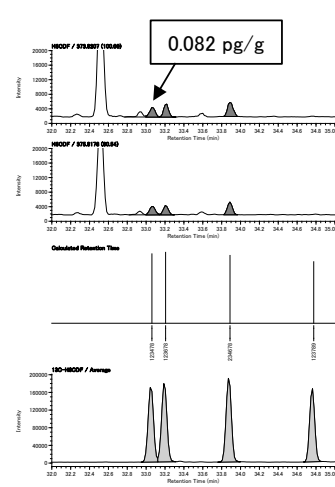


図 2 各精製方法における SIM クロマトグラムと分析値 (ボラ)

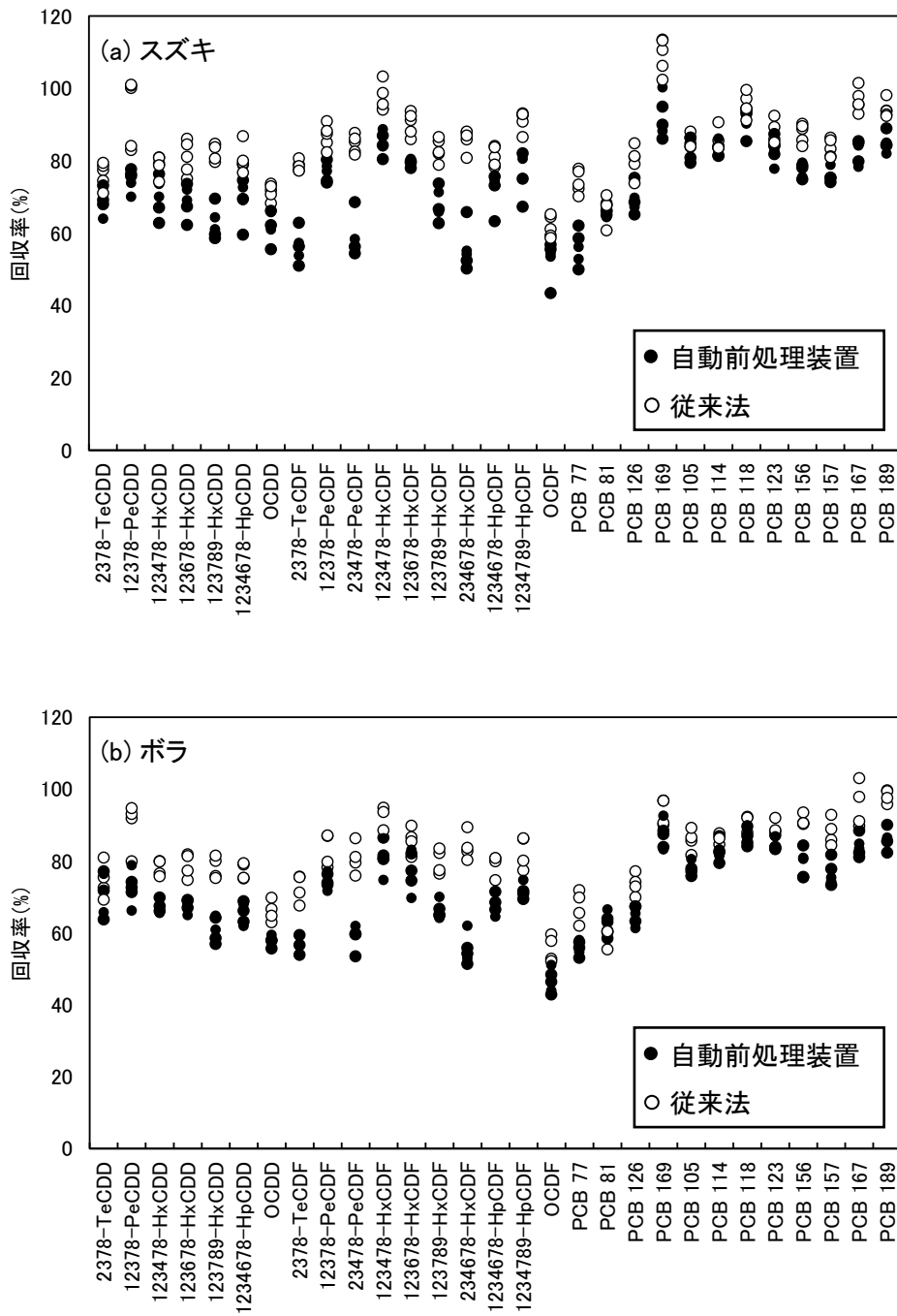


図 3 スズキ及びポラ分析時のクリーンアップスパイク回収率

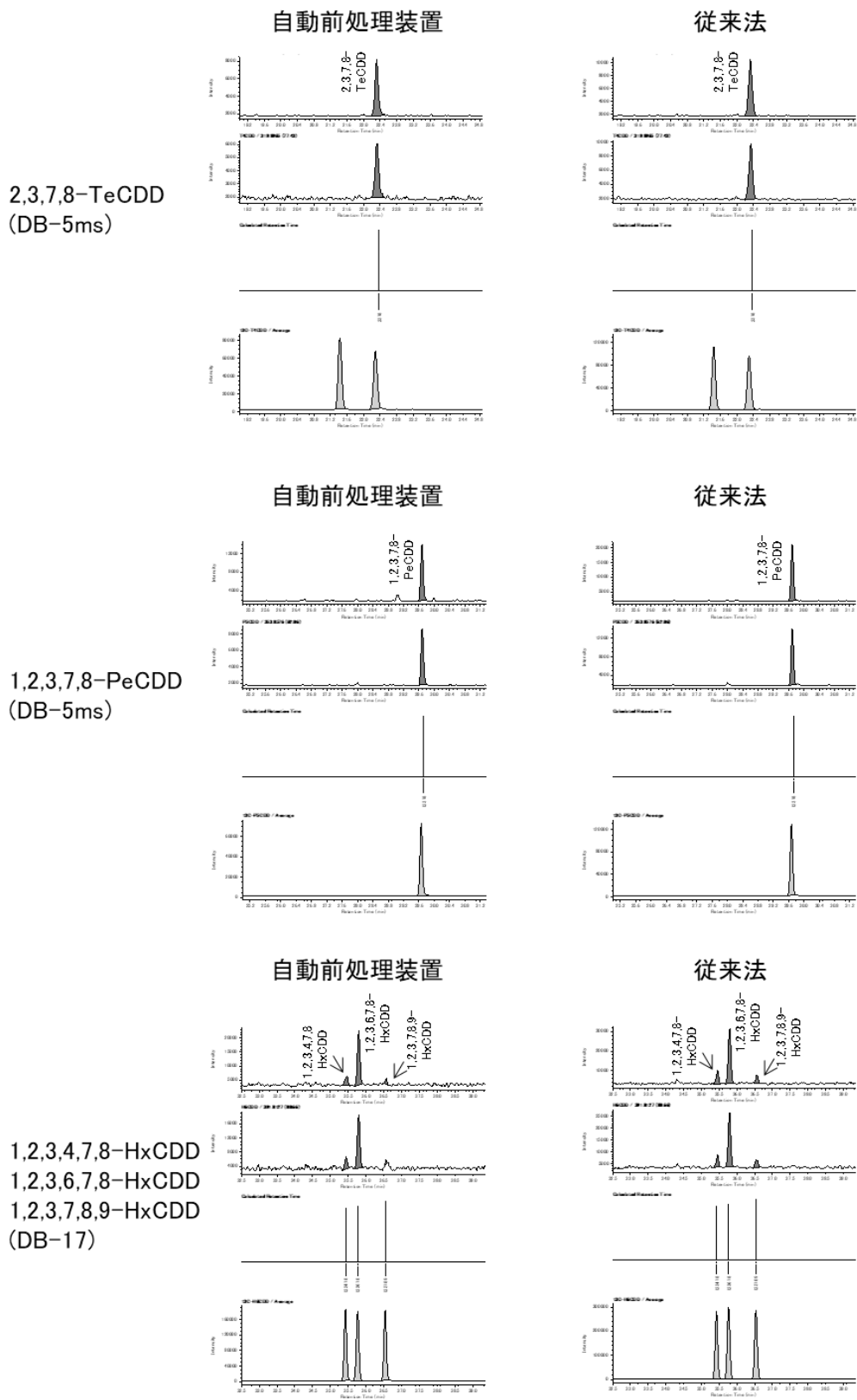


図 4 スズキの SIM クロマトグラムの一例

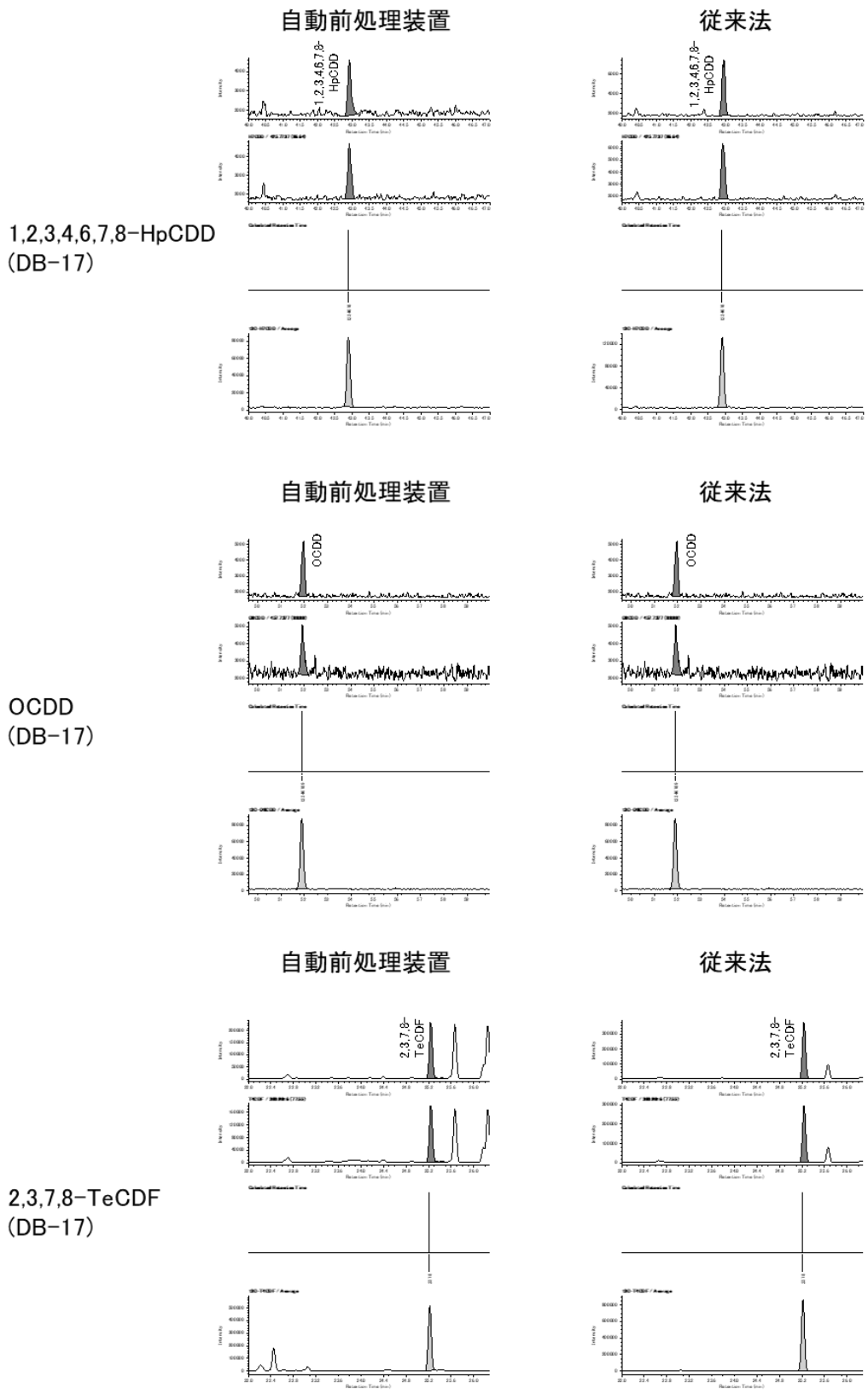


図 4 スズキの SIM クロマトグラムの一例 (つづき)

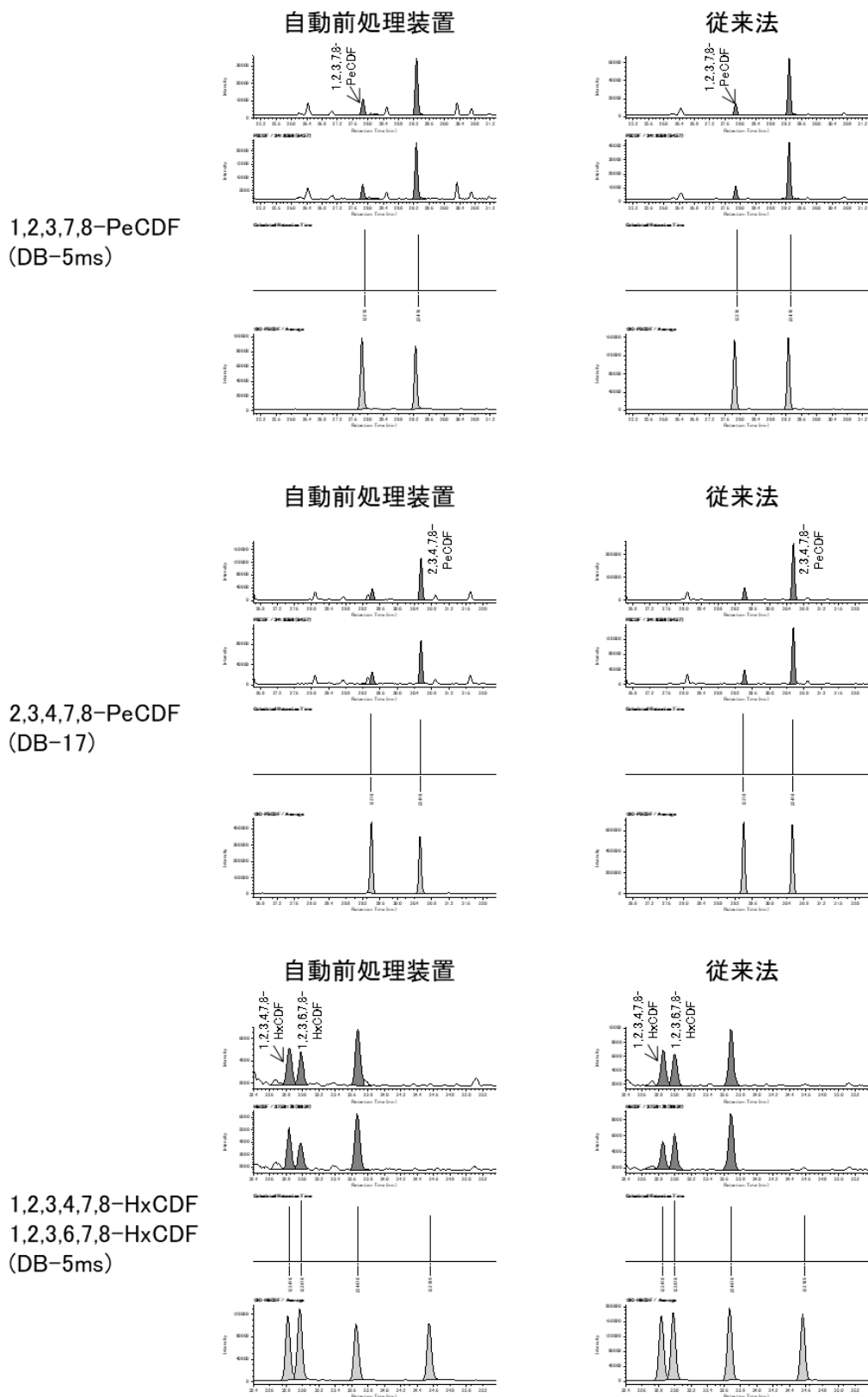


図 4 スズキの SIM クロマトグラムの一例 (つづき)

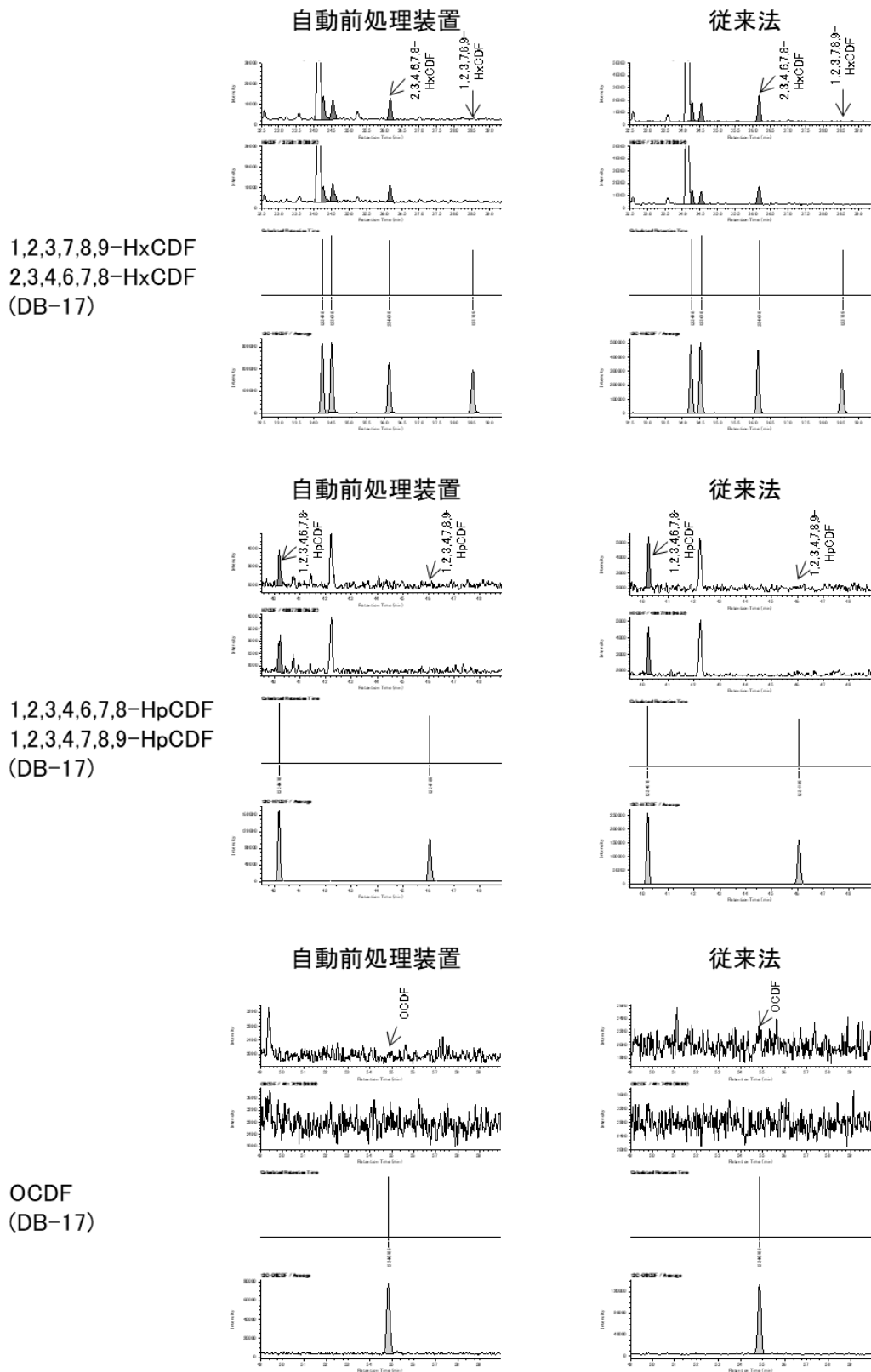
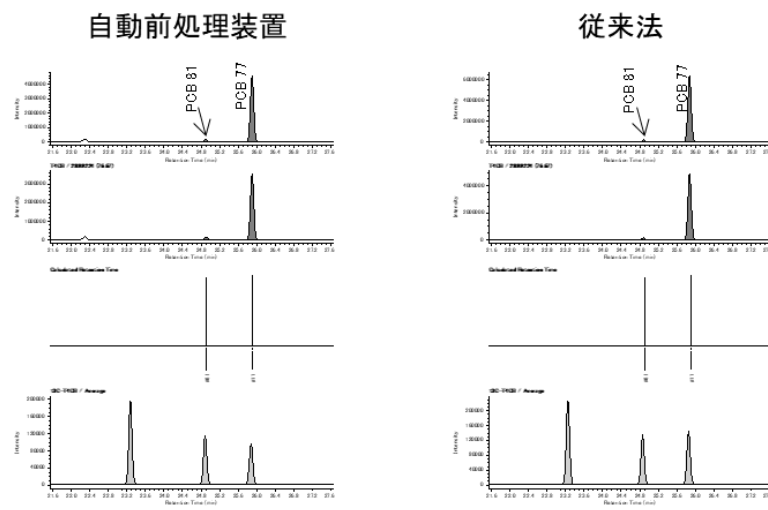
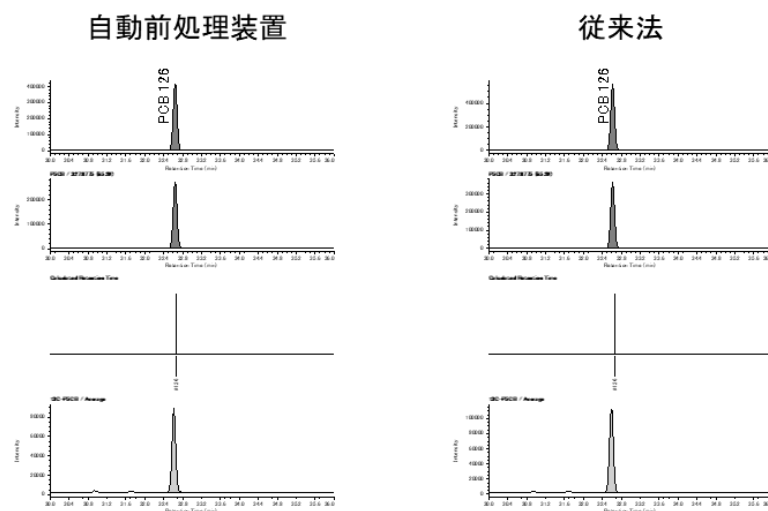


図 4 スズキの SIM クロマトグラムの一例 (つづき)

PCB 77
PCB 81
(HT-8)



PCB 126
(HT-8)



PCB 169
(HT-8)

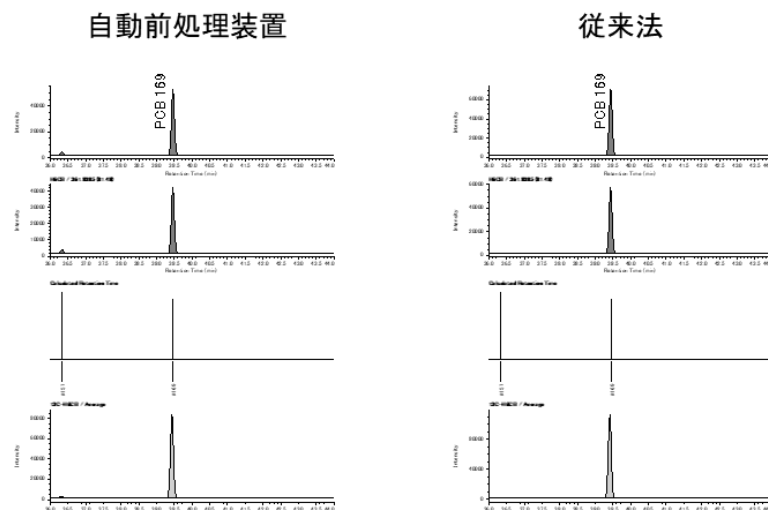


図 4 スズキの SIM クロマトグラムの一例 (つづき)

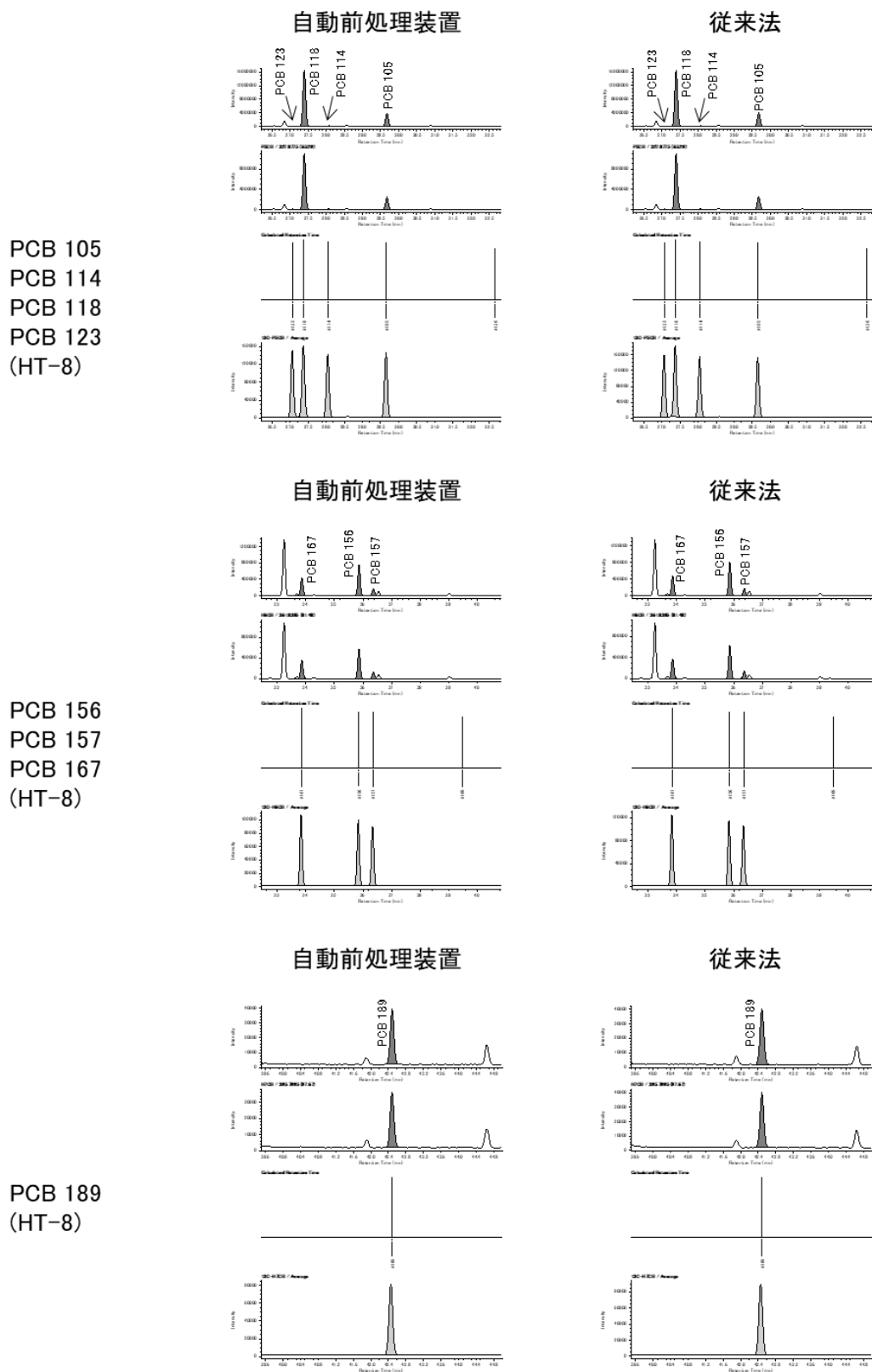
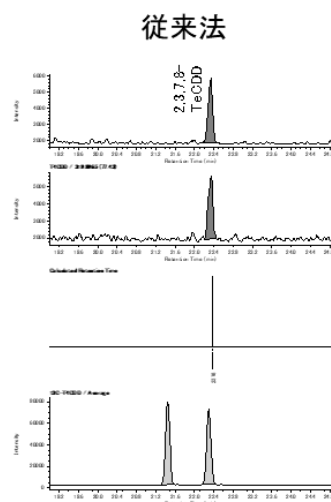
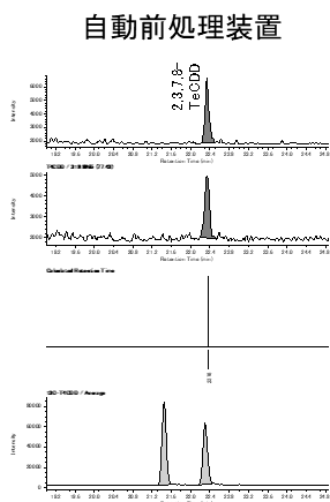
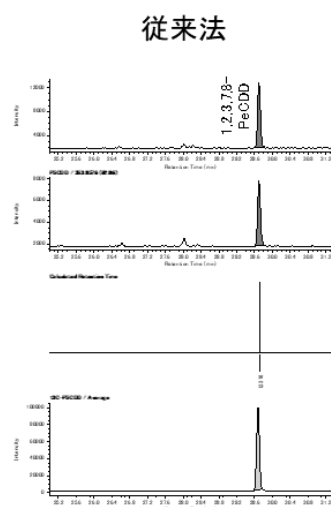
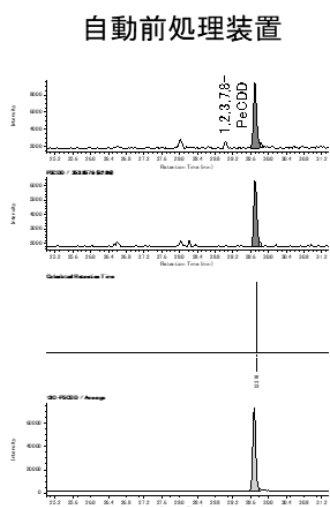


図 4 スズキの SIM クロマトグラムの一例 (つづき)

2,3,7,8-TeCDD
(DB-5ms)



1,2,3,7,8-PeCDD
(DB-5ms)



1,2,3,4,7,8-HxCDD
1,2,3,6,7,8-HxCDD
1,2,3,7,8,9-HxCDD
(DB-17)

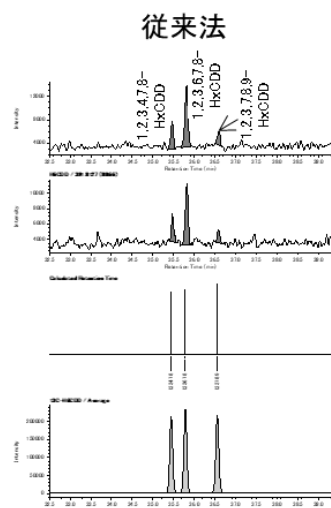
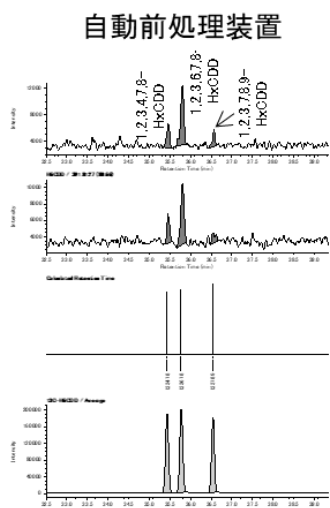


図 4 ボラの SIM クロマトグラムの一例

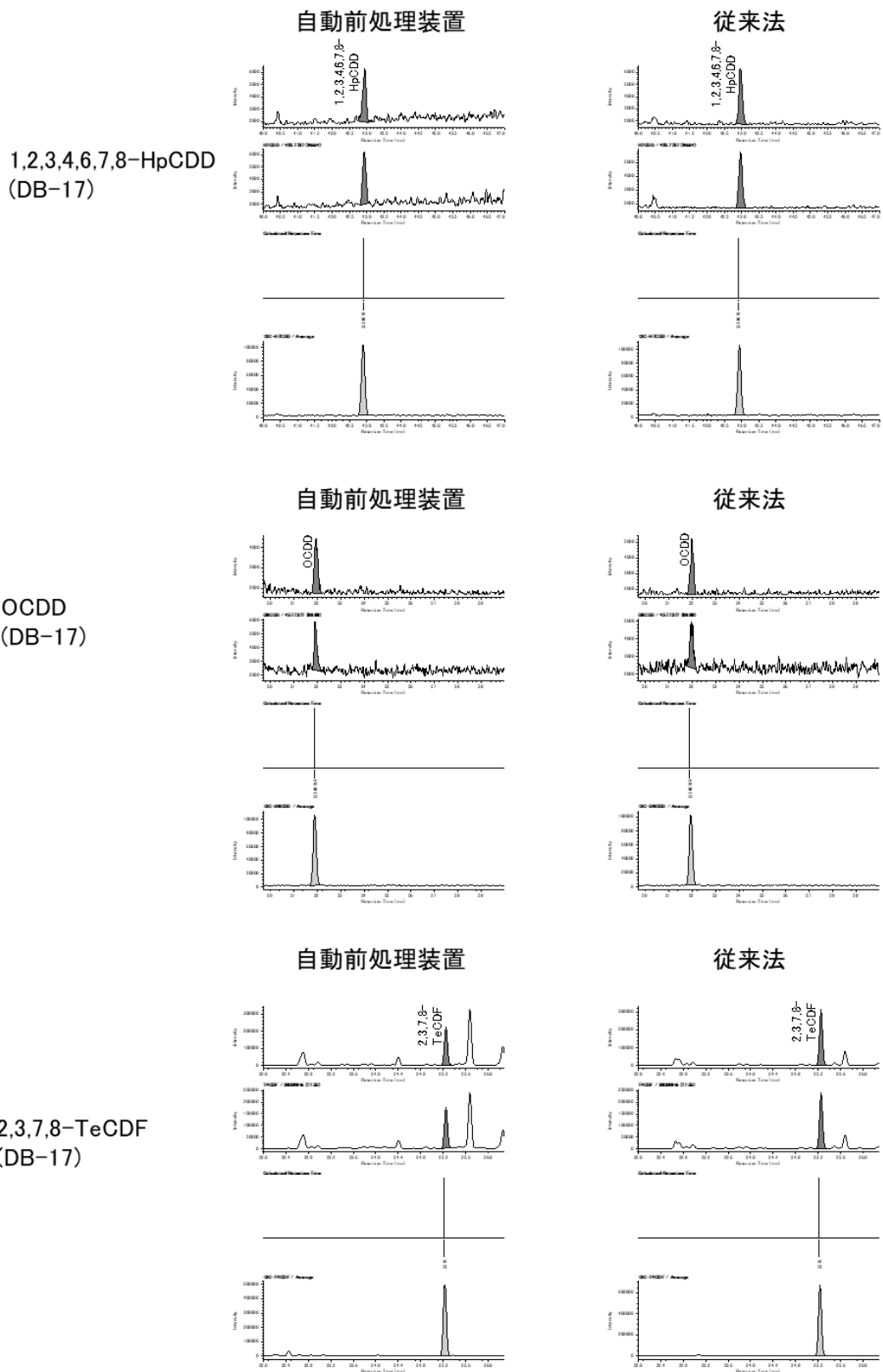


図 4 ボラの SIM クロマトグラムの一例 (つづき)

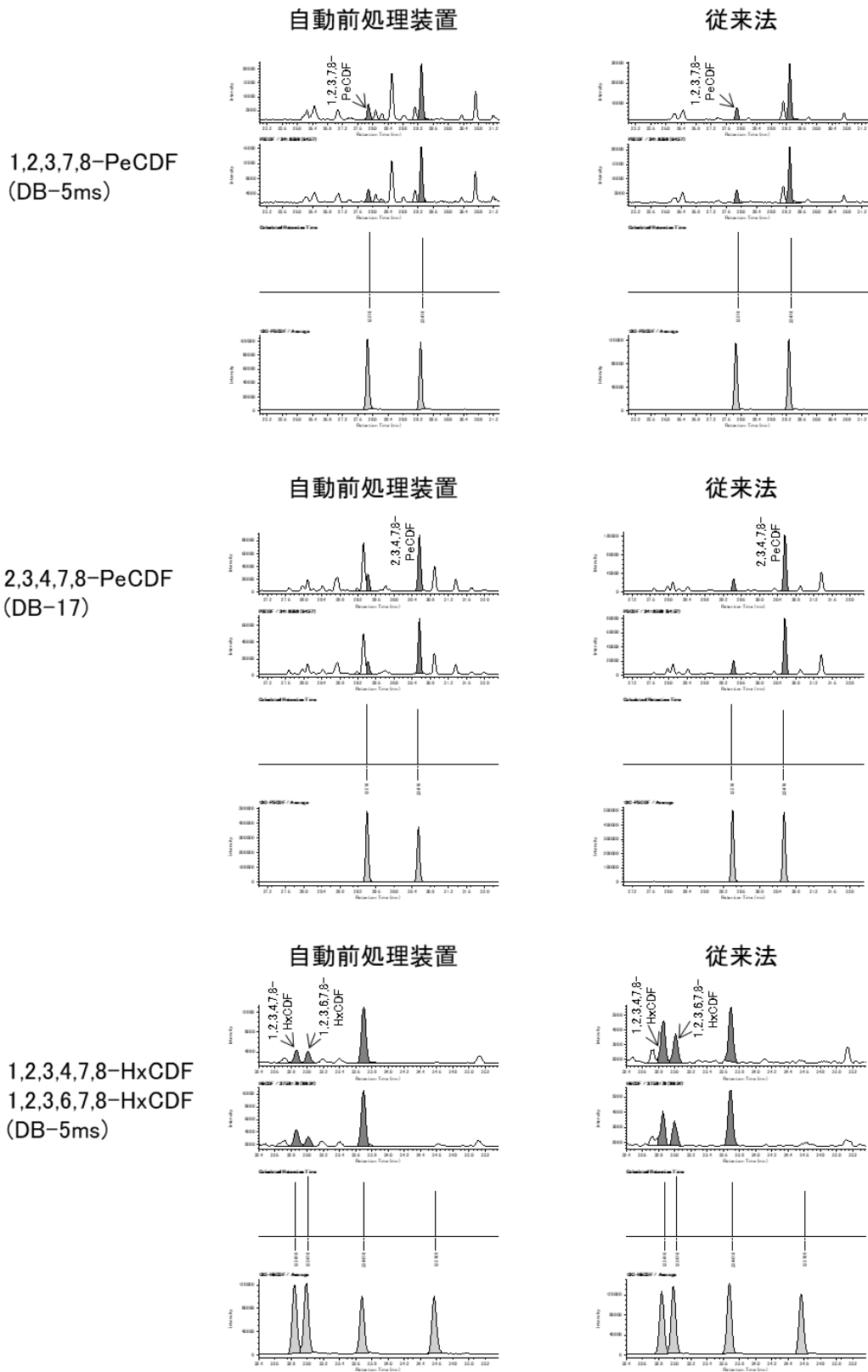


図 5 ボラの SIM クロマトグラムの一例(つづき)

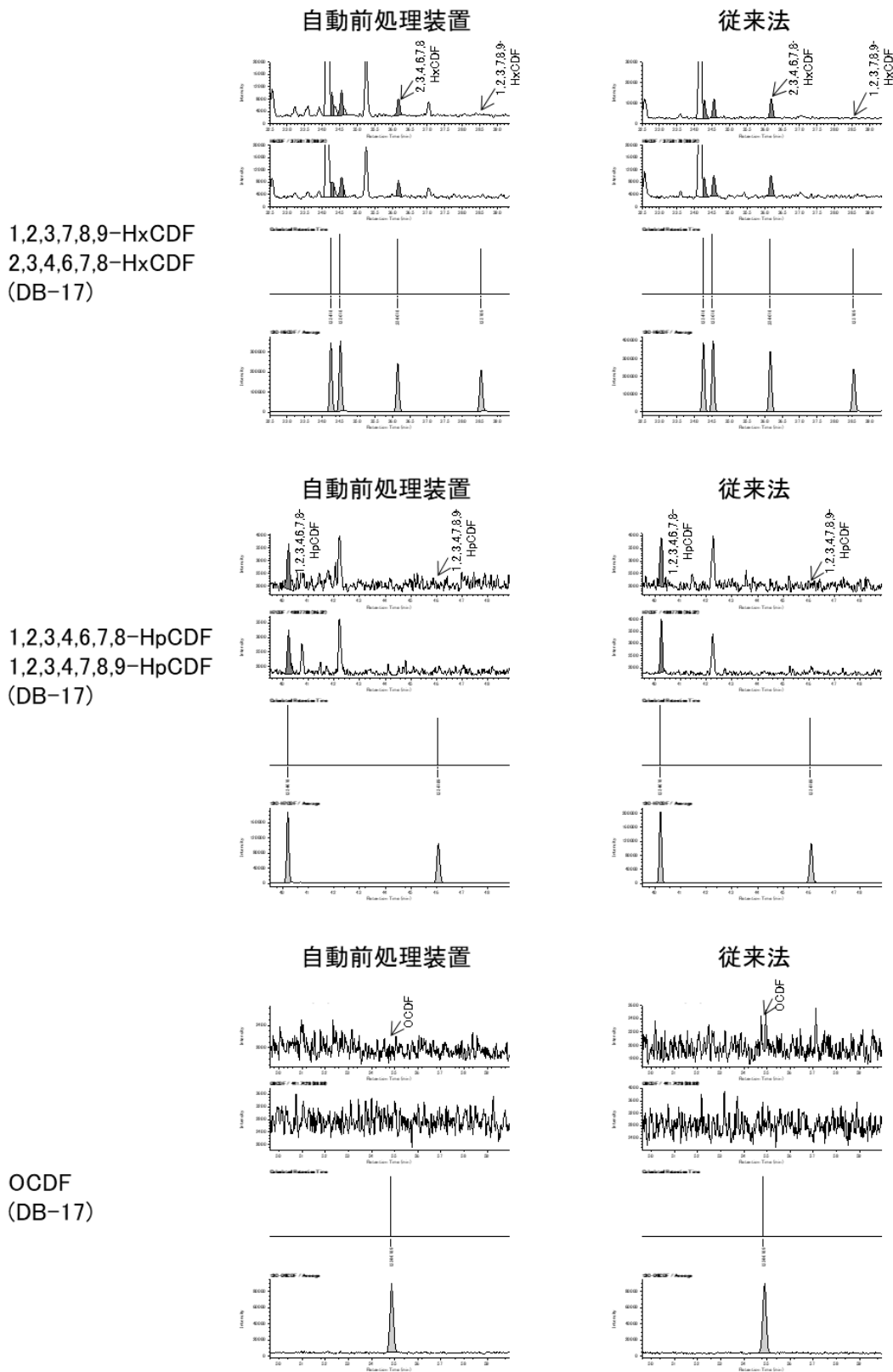


図 5 ボラの SIM クロマトグラムの一例(つづき)

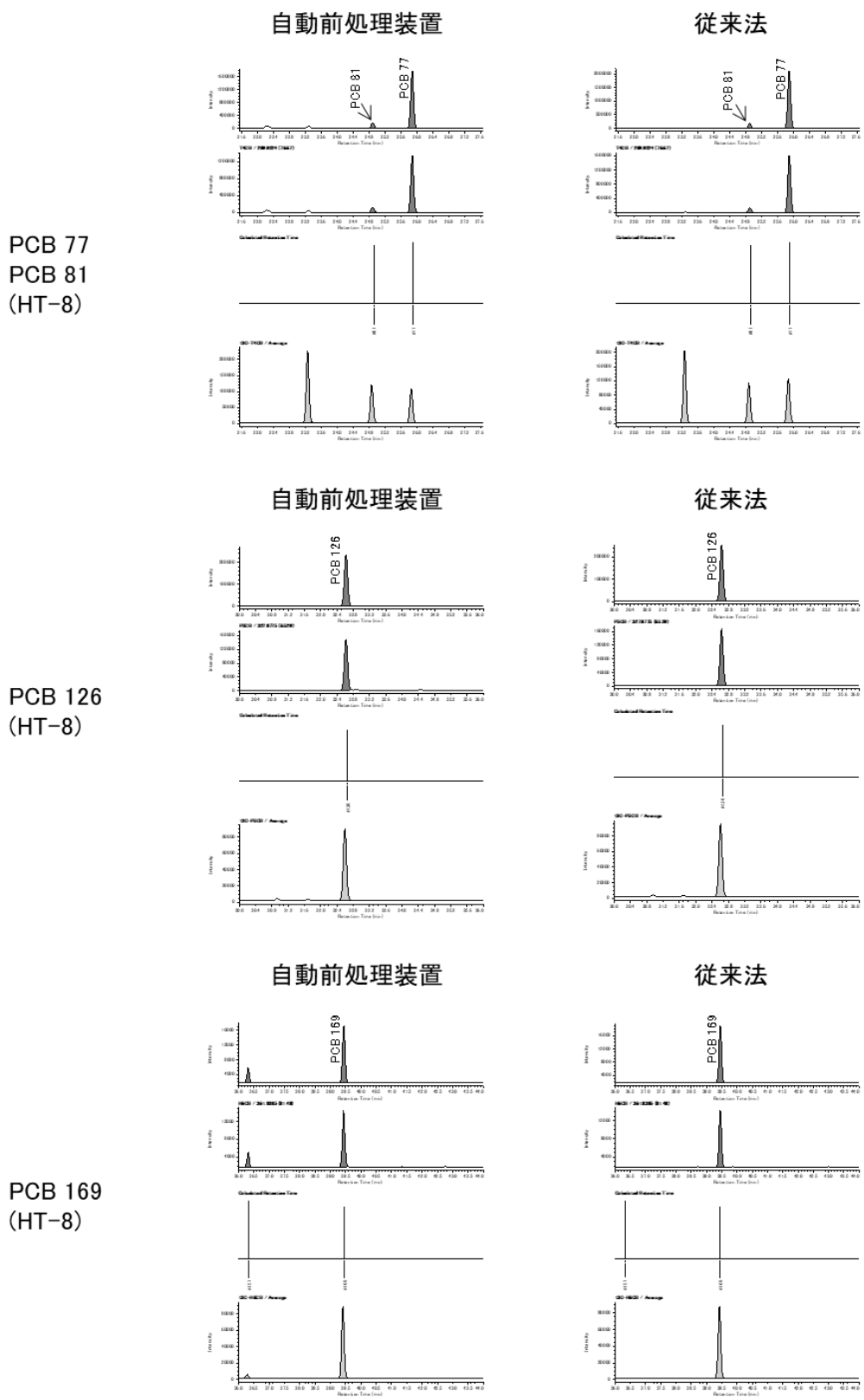


図 5 ボラの SIM クロマトグラムの一例(つづき)

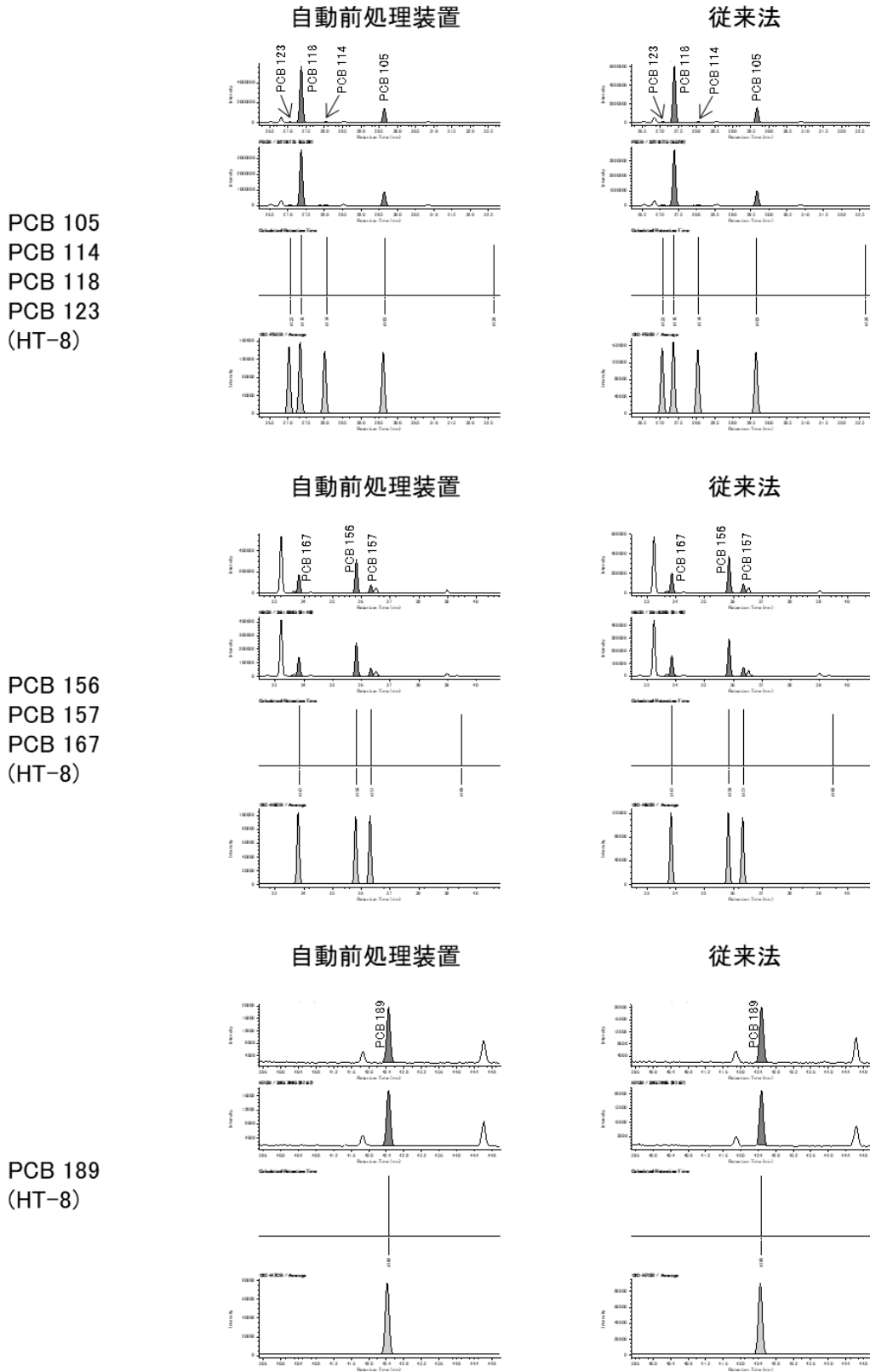


図 5 ボラの SIM クロマトグラムの一例(つづき)

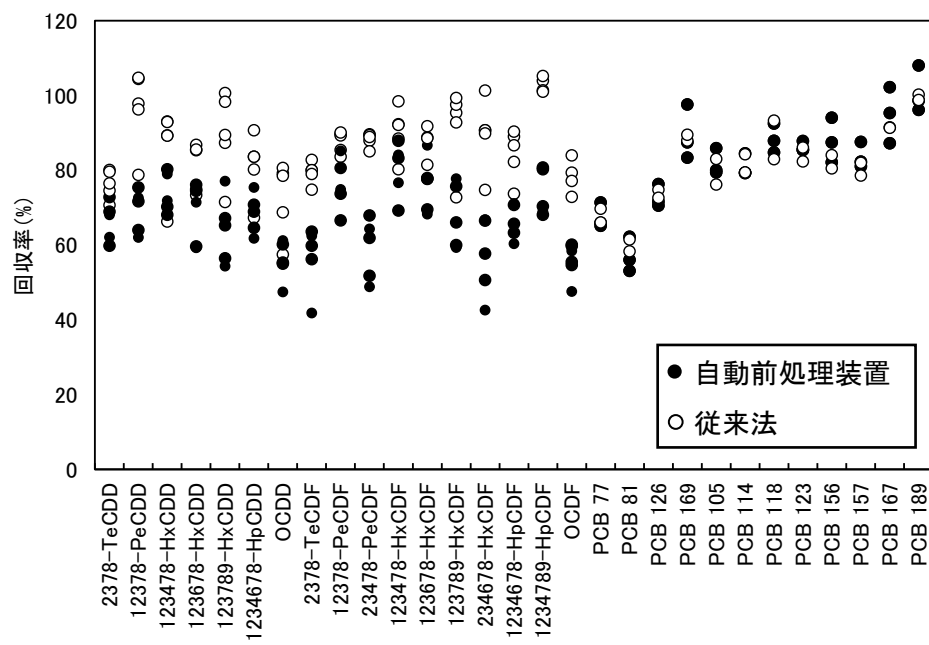


図 6 魚試料 (5 種) 分析時のクリーンアップスパイク回収率

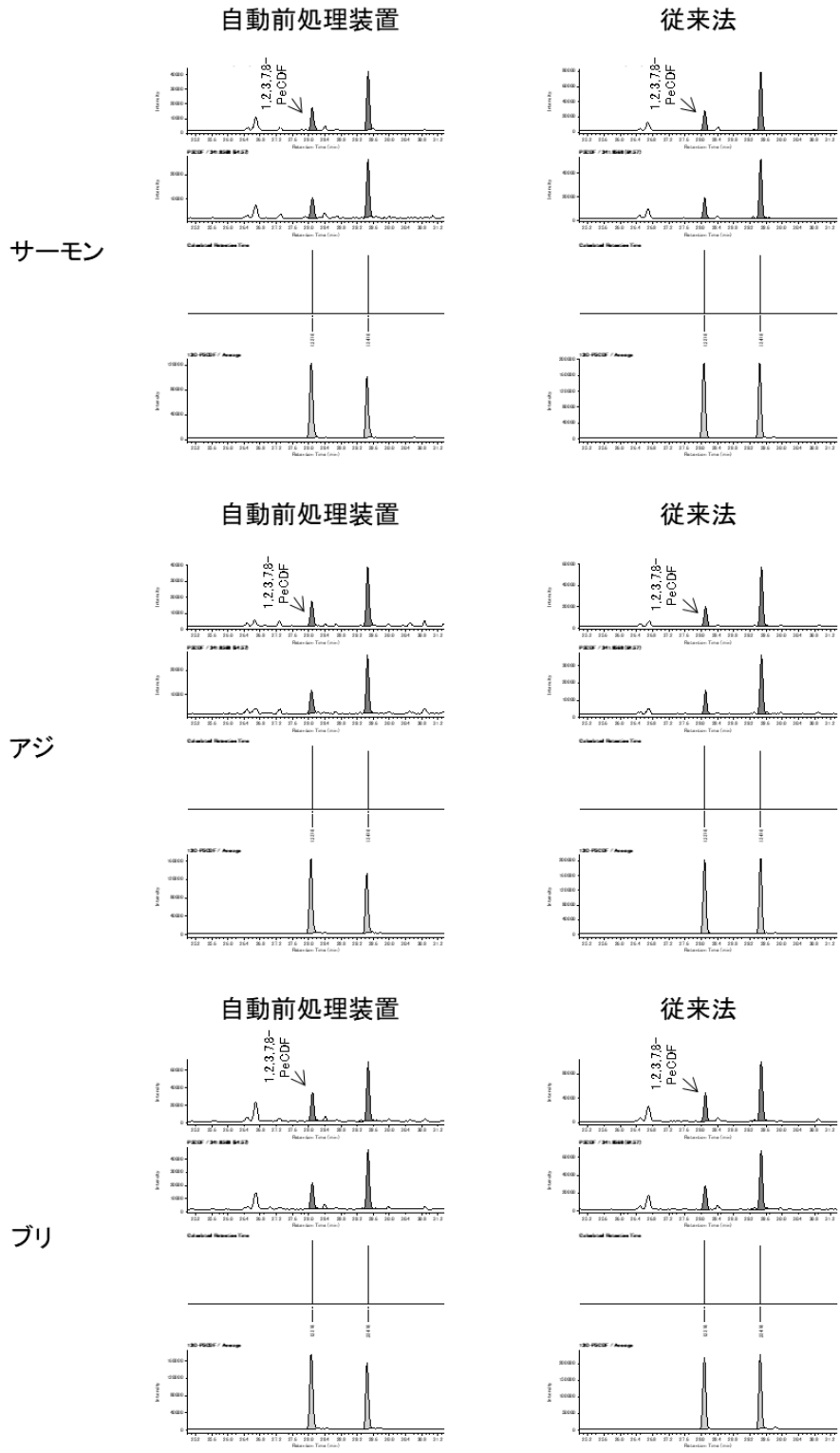


図 7 魚試料(5種)分析時のSIMクロマトグラム(1,2,3,7,8-PeCDF)

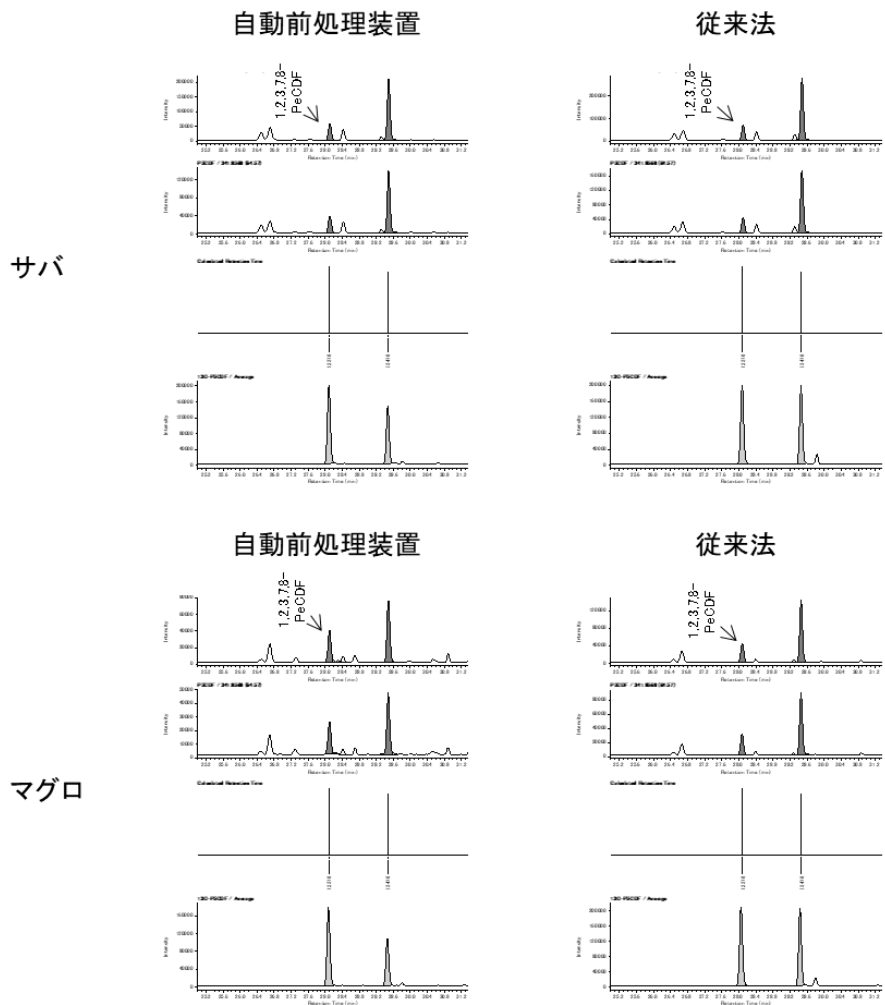


図 7 魚試料 (5 種) 分析時の SIM クロマトグラム (1,2,3,7,8-PeCDF)

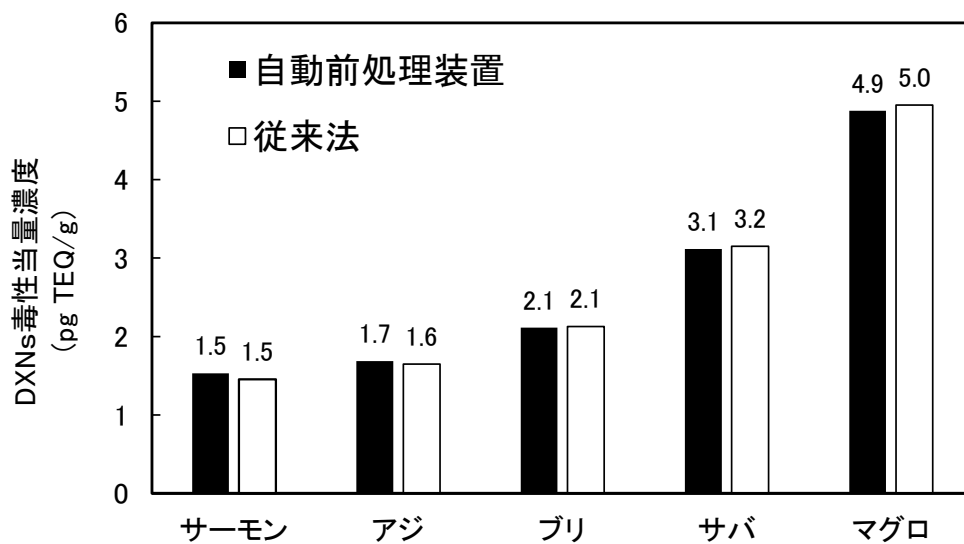


図 8 魚試料(5種)における毒性当量濃度の比較