

Ⅱ. 分担研究報告

課題1. 有害化学物質の分析法開発及び汚染実態調査

研究分担者 志田(齊藤)静夏

課題1. 有害化学物質の分析法開発及び汚染実態調査

研究分担者 志田(齊藤)静夏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部第三室長

研究要旨

昆虫食に含まれる有害化学物質の汚染実態調査に向けて、有害元素、農薬及びダイオキシン類の分析法を検討した。

[1] 有害元素分析法

マイクロ波分解/誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)法を用いたカドミウム、鉛及びヒ素分析法及び加熱気化型水銀分析計を用いた総水銀分析法の昆虫食への適用性を検討した。カドミウム、鉛及びヒ素分析法の性能を評価(添加濃度 0.1 mg/kg)した結果、真度 97~105%、併行精度及び室内精度 6%未満となった。また、総水銀分析法の性能を評価(添加濃度 0.005 及び 0.2 mg/kg)した結果、真度 97~104%、併行精度及び室内精度 4%未満となった。これらの結果から、いずれも実態調査のための分析法として妥当であることが示された。

[2] 農薬分析法

昆虫食を対象とした新規農薬分析法として、LC-MS/MS 及び GC-MS/MS を用いた農薬一斉分析法を開発した。本法はアセトンで抽出後、多孔性ケイソウ土カラムで脱脂し、3 種の充填剤(オクタデシルシリル化シリカゲル(ODS)、エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル(PSA)及びトリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル(SAX))を混合したミニカラム(GC-MS/MS 法はアルミナが積層されたミニカラム)で精製して LC-MS/MS または GC-MS/MS で測定する方法である。添加濃度 0.01 mg/kg で妥当性評価試験を行った結果、LC-MS/MS 法は 144 化合物中 135 化合物、GC-MS/MS 法は 141 化合物中 134 化合物で妥当性評価ガイドラインの真度、精度及び選択性の目標値を満たした。これらの結果から、一部の農薬を除き、昆虫食の汚染実態調査のための分析法として妥当と考えられた。

[3] ダイオキシン類分析法

従来から当所で使用している分析法(従来法)の昆虫食に対する適用性を検討した。その結果、前処理の操作性に大きな問題はなかった。また、世界保健機関(WHO)が毒性係数(TEF)を定めた PCDDs 7 種、PCDFs 10 種及び Co-PCBs 12 種について添加回収試験を行ったところ、回収率 84.1~111.9%、併行精度 1.9~13.3%の良好な結果が得られた。これらの結果から、従来法は昆虫食のダイオキシン類分析法として適用可能であることが確認された。

研究協力者

鍋師裕美(国立医薬品食品衛生研究所食品部第二室長)

鈴木美成(国立医薬品食品衛生研究所食品部第四室長)

田口貴章(国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長)

堤 智昭(国立医薬品食品衛生研究所食品部長)

張 天斉(国立医薬品食品衛生研究所食品部研究員)

高附 巧(国立医薬品食品衛生研究所食品部主任研究官)

齋藤真希(国立医薬品食品衛生研究所食品部非常勤職員)

武村奈穂(国立医薬品食品衛生研究所食品部非常勤職員)

A. 研究目的

国際連合食糧農業機関(FAO)は 2013 年に報告書「Edible insects: future prospects for food and feed security」を公表し、昆虫はタンパク質やミネラル等の栄養成分が豊富であること、牛や豚等よりも飼料変換効率がよく、環境への負荷を抑制できることから、人口増加による食糧不足の解決の一助となる可能性を示した。この報告書が発表されて以降、養殖昆虫は食糧源や飼料源として注目されており、世界各国で昆虫の養殖や食料化、飼料化に関する研究が行われている。一方で、FAO は報告書「Looking at edible insects from a food safety perspective」(2021 年)の中で、昆虫の養殖や加工において十分管理が行われなければ、有害化学物質や微生物等に汚染する可能性があることと安全性への懸念も示している。昆虫の養殖では、食品廃棄物や農業廃棄物等が飼料として用いられる場合があるが、飼料が有害化学物質や微生物等に汚染されていた場合、飼料を介して昆虫が汚染し、昆虫種/汚染物質によっては蓄積する可能性がある。昆虫は個体が小さいこと、牛や豚等とは異なり、丸ごと摂取されることから、収穫後に汚染物質を除去することは困難である。このようなことから、EU 等の諸外国では昆虫食の安全性評価が進められている。一方、我が国ではほとんど調査研究が行われておらず、昆虫食の安全性に関する科学的知見は限られている。そこで本研究課題では、国内に流通する昆虫食を対象に有害化学物質(有害

元素、農薬及びダイオキシン類)の汚染実態を調査し、昆虫食の喫食による健康危害リスクについて考察することを目的とした。本年度(1年目)は、昆虫食に含まれる有害化学物質の汚染実態調査に向け、昆虫食を対象とした有害元素(カドミウム、鉛、ヒ素及び水銀)、農薬及びダイオキシン類分析法を検討した。

B. 研究方法

[1] 検体

有害元素及び農薬の分析法の検討にはインターネットを介して購入した昆虫食 8 製品(23-001～23-007 及び 23-009)を用いた(表 1)。ダイオキシン類の分析法の検討には 3 製品(23-001～23-003)を用いた。

[2] 試料調製

パウダー製品であった 23-003 はそのまま分析に用いた。その他の検体は有姿状態で販売されていたため、粉碎装置 GM200 及び GM300(いずれも Verder Scientific 製)を用いて試料調製(均質化)したものを分析に用いた。なお、回転刃はチタンコーティングされたもの、容器はポリカーボネート製のものを使用した。調製した試料は分析まで-30℃で保管した。

[3] 水分及び脂質含量の測定

各試料中の水分は、水分計 MOC63u(島津製作所製)を用いて測定した。

脂質含量は一般財団法人日本食品分析センターに委託し、ソックスレー抽出法により測定した。

[4] 分析法の検討

I. 有害元素(カドミウム、鉛及びヒ素)

カドミウム(Cd)、鉛(Pb)及びヒ素(As)の分析は以下のように行った。なお、内部標準元素にはインジウム(In)及びタリウム(Tl)を用いた。

1. 試薬及び試液

超純水は、Milli Q Element A10(Merck 製)により製造したもの(比抵抗 18.2 MΩ·cm)を使用した。硝酸(1.42 Ultrapur-100)、過酸化水素水(Ultrapure)は関東化学製を用いた。

混合標準溶液は西進商事製 XSTC-622(10 mg/L)を使用した。インジウム(In)及びタリウム(Tl)の標準原液はシグマアルドリッチ製の Trace CERT ICP 用を用いた。

インジウム(In)及びタリウム(Tl)混合内部標準溶液は、インジウム及びタリウムの濃度がそれぞれ 10 及び 0.5 mg/L になるように、各標準原液から適量分取し、硝酸 20 mL を加えた後、水で 200 mL に定容したものを用いた。

2. 装置

マイクロ波試料前処理装置は ETHOS One(Milestone 製)を使用した。ICP-MS 装置は iCAP Q(Thermo Fisher Scientific 社製)を使用した。

3. 分析法

分析用試料 0.50 g を石英製分解容器に量り採り、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(変性ポリテトラフルオロエチレン)製分解容器に前述の石英製分解容器を入れ、マイクロ波試料前処理装置により分解した。分解は次の条件で行った。70°C 2 分間→50°C 1 分間→20 分間で 200°C まで昇温し、200°C で 10 分間保持(総分解時間: 33 分間)

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、ICP-MS により測定した。なお、分解容器を開封して希釈する作業は HEPA(High Efficiency Particulate Air)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。

ICP-MS の測定条件は以下の通りである。なお、ICP-MS 測定に係る非金属性の容器・器具は約 5 mol/L の硝酸に 1 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内で乾燥させたものを用いた。

スプレーチャンバー: サイクロン型

コリジョンガス: ヘリウム(99.9999%)、4.9 mL/min

測定モード: KED(Kinetic Energy Discrimination: 運動エネルギー弁別)モード

積分時間(s): 0.1(Cd、Pb、Tl) 0.3(As、In)

チャンネル数: 1

スペース(u): 0.1

掃引数(回): 10

繰り返し回数: 3 回

分析対象元素の測定質量電荷比 ⁷⁵As、¹¹¹Cd、²⁰⁸Pb

内部標準元素の測定質量電荷比 ¹¹⁵In(Cd、As)、²⁰⁵Tl(Pb)

4. 性能評価

試料 23-009 を用いて、添加濃度 0.1 mg/kg で分析法の性能を評価した。無添加試料及び添加試料を 1 日 2 併行、5 日間分析し、各性能パラメータを求めた。なお、用いた試料(23-009)に各元素が含まれていたため、無添加試料から得られた測定値の平均値を、対応する個々の添加試料から得られた測定値から差し引いて測定結果を算出した。

5. 無機ヒ素の分析

無機ヒ素は一般財団法人日本食品分析センターに委託して分析を行った。

II. 有害元素(水銀)

1. 試薬及び試液

硝酸(1.42 Ultrapur-100)及びL-システインはナカライテクス製を用いた。超純水は Milli Q Element A10(Merck 製)により製造したもの(比抵抗 18.2 MΩ·cm)を使用した。原子吸光分析用 1000 mg/L 水銀標準原液は関東化学製のものを用いた。

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。

2. 総水銀の分析

総水銀は加熱気化型水銀分析計 MA-3000(日本インスツルメンツ製)を用いて測定した。試料 100 mg をセラミック製サンプルボード(日本インスツルメンツ製)に精密に量り採り、測定に供した。水銀濃度が 0.01 mg/kg 未満の試料及び標準溶液の測定には低濃度用の吸光セル、0.01 mg/kg 以上の測定には高濃度用の吸光セルを用いた。試料は 150°C で 1 分乾燥後、250°C で 10 分間加熱し、さらに 800°C で 2 分間加熱した。検量線用標準溶液は 150°C で 1 分乾燥後、800°C で 2 分間加熱した。なお、サンプルボードは、約 5 mol/L 硝酸に 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°C で 3 時間加熱した。これを冷却後、加熱気化型水銀分析計により 850°C で 4 分間再加熱したものを使用した。

水銀標準原液を 100 mg/L L-システイン溶液で適宜希釈し、検量線用標準溶液とした。各検量線用標準溶液中の水銀量は、検体の濃度に応じて 0.025~1 ng の 8 点または 0.5~30 ng の 8 点とした。

3. 性能評価

試料 23-005 を用いて、添加濃度 0.005 及び 0.2 mg/kg で分析法の性能を評価した。無添加試料及び添加試料を 1 日 2 併行、5 日間分析し、各性能パラメータを求めた。なお、用いた試料(23-005)に水銀が含まれていたため、無添加試料から得られ

た測定値の平均値を、対応する個々の添加試料から得られた測定値から差し引いて測定結果を算出した。1 ng/mL 水銀標準溶液 100 µL (総水銀の量として 0.1 ng)を繰り返し測定(n=10)して得られた分析値の標準偏差の 10 倍となる 0.004 ng を定量下限(LOQ)の推定値とした。測定に供する試料量が 100 mg の場合には、LOQ に相当する総水銀の試料における濃度は 0.0004 mg/kg であった。

4. メチル水銀の分析

メチル水銀は一般財団法人日本食品分析センターに委託して分析を行った。

III. 農薬

LC-MS/MS で測定可能な農薬 144 化合物及び GC-MS/MS で測定可能な農薬 141 化合物を対象とした。

1. 試薬及び試液

アセトニトリル、アセトン及びヘキサンは関東化学製の残留農薬試験用、LC-MS/MS 測定に使用した水及びメタノールは関東化学製の LC/MS 用を用いた。試験溶液調製用の水は超高純度蒸留水精製装置 NZJ-2DSYW(藤原製作所製)で蒸留したものをを用いた。ろ紙はアドバンテック製の定量ろ紙 No.5A、ケイソウ土は富士フィルム和光純薬製のセライト 545 を用いた。酢酸アンモニウムは富士フィルム和光純薬製の特級を用いた。固相ミニカラムは InertSep AL-N/VRA-PR(400 mg/1600 mg)、InertSep VRA-PR(1600 mg)、InertSep C18(1000 mg)、InertSep PSA(500 mg)、InertSep SAX(500 mg)及び InertSep K-solute(20 mL)(いずれもジーエルサイエンス製)を用いた。

2. 装置及び測定条件

2-1. LC-MS/MS

LC-MS/MS 装置は、Nexera X3(島津製作所製)及び Triple Quad 7500(Sciex 製)を使用し、以下の

条件で測定した。

カラム InertSustain C18(内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 2 μm 、ジールサイエンス製); カラム温度 40°C; 注入量 2 μL ; 移動相 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液(A液)及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液(B液); 流速 0.3 mL/min; グラジエント条件 0分(A:B=98:2)→10分(A:B=5:95)→15分(A:B=5:95)→15.1分(A:B=1:99)→20分(A:B=1:99)→20.1分(A:B=98:2);イオン化法 ESI(+)及び ESI(-); イオンスプレー電圧 2500 V; ヒーター温度 350°C;カーテングス 窒素、35 psi; ネブライザーガス ドライエアー、70 psi; ターボガス ドライエアー、70 psi; コリジョンガス 窒素、7;測定モード 選択反応モニタリング(SRM)

2-2. GC-MS/MS

GC-MS/MS 装置は、ガスクロマトグラフ 7890 (Agilent Technologies 製)及び質量分析計 Xevo TQ-XS (Waters 製)を使用し、以下の条件で測定した。

カラム DB-5ms(内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm : Agilent Technologies 製);ガードカラム Rxi ガードカラム(フューズドシリカチューブ、内径 0.25 mm、長さ 2 m: Restek 製);カラム温度 50°C (1 min) - 25°C/min - 125°C (0 min) - 10°C/min - 300°C (10 min); キャリヤーガス 窒素; キャリヤーガス流量 1.5 mL/min (定流量); 注入方式 パルスドスプリットレス; 注入量 2 μL ; 注入口温度 260°C; トランスファーライン温度 300°C; イオン源温度 150°C; イオン化モード 大気圧化学イオン化 (APCI) 法 ポジティブモード; コロナ電流 2 μA ; コーンガス流量 270 L/h; AUX (auxiliary) ガス流量 300 L/h; メイクアップガス流量 300 mL/min; コリジョンガス アルゴン; 測定モード SRM

3. 試験溶液の調製

3-1. 抽出

1) 乾燥試料

試料 10.0 g に水 20 mL を加え、30 分間放置した。これにアセトン 100 mL を加え、ホモジナイザー Polytron PT 10-35 GT (Kinematica 製)を用いて約 1 分間ホモジナイズした後、ケイソウ土を約 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、約 1 分間ホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、水 20 mL を加えた後、アセトンを加えて正確に 200 mL とした(抽出液)。

2) 冷凍試料

試料 20.0 g にアセトン 100 mL を加え、ホモジナイザーを用いて約 1 分間ホモジナイズした後、ケイソウ土を約 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。残留物を採り、アセトン 50 mL を加えて約 1 分間ホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 200 mL とした(抽出液)。

3-2. 多孔性ケイソウ土カラム精製

抽出液 8 mL (乾燥試料: 試料 0.4 g 相当、冷凍試料: 0.8 g 相当)を採り、エタノール 5 mL を加えてエバポレーターで 0.5 mL 以下まで濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去した。残渣をアセトニトリル飽和ヘキサン 3 mL に溶解して多孔性ケイソウ土カラムに負荷し、5 分間放置後、ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL で溶出した。これをエバポレーターで濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去し、残留物をアセトニトリル 1 mL に溶解した。

3-3. ミニカラム精製

1) LC-MS/MS 対象農薬

InertSep VRA-PR (1600 mg) にアセトニトリル 5 mL を注入し、コンディショニングした。これに 3-2 で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル 10 mL で溶出した。溶出液をエバポレーターで濃縮後、

窒素気流下で溶媒を除去し、メタノール(乾燥試料の場合は 2 mL、冷凍試料の場合は 4 mL)に溶解して試験溶液とした。

2) GC-MS/MS 対象農薬

InertSep AL-N/VRA-PR(400 mg/1600 mg)にアセトニトリル 5 mL を注入し、コンディショニングした。これに 3-2 で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル 10 mL で溶出した。溶出液をエバポレーターで濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去し、アセトン/ヘキサン(1:1)(乾燥試料の場合は 2 mL、冷凍試料の場合は 4 mL)に溶解して試験溶液とした。

4. 定量

4-1. マトリックス検量線法

ブランク試験溶液 100 µL を採り、窒素気流下で溶媒を除去後、0.0005、0.001、0.0015、0.002、0.0025 及び 0.003 µg/mL 濃度の溶媒標準溶液(LC-MS/MS 用はメタノール、GC-MS/MS 用はアセトン/ヘキサン(1:1))100 µL を加えて溶解したものをマトリックス添加標準溶液とした。これらの溶液を LC-MS/MS または GC-MS/MS に注入し、検量線を作成した。各試験溶液を LC-MS/MS または GC-MS/MS に注入し、検量線から絶対検量線法により濃度を求めた。

4-2. 標準添加法

「3. 試験溶液の調製」で得られた溶液を用いて、表 2 に示した方法で標準添加法のための試験溶液(無添加試験溶液、添加試験溶液)を調製した。作成した無添加試験溶液及び添加試験溶液を GC-MS/MS または LC-MS/MS に注入し、添加濃度を横軸、ピーク面積を縦軸として、関係線を作成した。無添加試験溶液から得られたピーク面積に相当する濃度は、関係線と横軸との交点から求めた。

5. 妥当性評価

試料 23-003 を用いて、添加濃度 0.01 ppm で確

立した分析法の妥当性を評価した。「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」(妥当性評価ガイドライン)¹⁾に従い、1日2併行、5日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを求めた。定量は、4-1に従ってマトリックス検量線法を用いて行った。

6. 昆虫試料の分析

確立した分析法を用いて昆虫試料(23-001～23-007及び23-009)を分析した。定量は、4-2に従って標準添加法を用いて行った。

IV. ダイオキシン類

1. 試料

ダイオキシン類の分析法の検討では 23-001～23-003 を用いた。

2. 分析対象項目及び目標検出下限値

分析対象項目は、WHO が毒性係数(TEF)を定めた PCDDs 7種、PCDFs 10種及び Co-PCBs 12種の計 29種とした。ダイオキシン類各異性体の目標検出下限値(LOD)は以下のとおりである。

	検出下限値
PCDDs	(pg/g)
2,3,7,8-TCDD	0.01
1,2,3,7,8-PeCDD	0.01
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.02
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.02
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.02
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.02
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	0.05
PCDFs	
2,3,7,8-TCDF	0.01
1,2,3,7,8-PeCDF	0.01
2,3,4,7,8-PeCDF	0.01
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.02

1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.02
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.02
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.02
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.02
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.02
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	0.05

Co-PCBs

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

3. 分析方法

ダイオキシン類の分析は、「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、ダイオキシン類測定方法ガイドライン)²⁾に準じた。

3-1. 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 FUD-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(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 IQ7005 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%水酸化カリウムシリカゲル 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。

GC キャピラリーカラムは、DB-17(内径 0.25 mm×60 m、膜厚 0.25 μm)、DB-5ms(内径 0.32 mm×60 m、膜厚 0.25 μm)をアジレント・テクノロジー株式会社より、HT8(内径 0.22 mm×50 m、膜厚 0.25 μm)を SGE 社(現、トレイジャン サイエントフィック株式会社)より購入した。

3-2. 機器

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

社製

3-3. 試験溶液の調製

均一化した試料をビーカーに量り採り、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 200 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、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サカラムに注入し、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。

3-4. 高分解能 GC/MS 測定条件

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°C

注入量: 1.5 μL

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

キャリアーガス: ヘリウム (流速: 1.8 mL/分)

② 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-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°C

注入量: 2.0 μL

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

キャリアーガス: ヘリウム (流速: 1.5 mL/分)

③ Co-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°C

注入量:1.5 μ L

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

イオン源温度:280°C

イオン化法:電子イオン化(EI)法ポジティブモード

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:ダイオキシン類測定方法ガイドラインに準じた。

C. 研究結果及び考察

[1] 試料調製の検討

本課題では、国内で流通している昆虫食 8 製品(23-001~23-007 及び 23-009: 表 1)を対象とした。パウダー製品であった 23-003 はそのまま分析に供した。有姿状態で販売されていたその他の製品は、検体 1 kg(23-007 は 300 g)を試料調製(均質化)したものを分析に用いた。

試料調製には、1 kg 程度まで処理可能な GM300(Verder Scientific 製)を用いた。重金属のコンタミを防止するため、回転刃はチタンコーティングされたもの、容器はポリカーボネート製のものを使用した。各検体を試料調製した結果、23-001 及び 23-002 のように脂質含量が高く、粘性が高いもの及び 23-005 のように繊維質が多いものでは粉碎中に回転が停止し、均質化するのが困難であった。そこで、検体約 1 kg を 200~300 g ずつに分け、より高い回転数で粉碎可能な GM200(Verder Scientific 製)を用いて約 6000 rpm で均質化した後、得られた試料を合わせ GM300 で再度、粉碎

(約 1000 rpm)し、混合したところ、いずれの試料も均質化することができた。このため、試料調製は検体を 200~300 g ずつに分け、GM200 で均質化後、得られた試料を合わせて GM300 で粉碎及び混合することとした。なお、検体量が 300 g 以下の場合には GM200 のみで試料調製を行うこととした。各試料の均質化前及び均質化後の写真を図 1 に示した。

[2] 水分及び脂質含量

各試料の水分及び脂質含量を表 3 に示した。水分は乾燥試料では 5%未満、冷凍試料では 58.6~85.4%であった。脂質含量は、乾燥試料では 18.2~36.3%、冷凍試料では 2.0~17.5%となり、昆虫種によって大きく異なることが確認された。

[3] 分析法の検討

I. 有害元素(カドミウム、鉛及びヒ素)

1. 性能評価

当所において従来から有害元素の分析に用いているマイクロ波分解/ICP-MS 法の昆虫食試料への適用性を検討した。カドミウム、鉛及びヒ素の各元素について添加濃度 0.1 mg/kg で 1 日 2 併行、5 日間の添加回収試験を行い、性能を評価した。なお、事前分析の結果、23-001~23-007 及び 23-009 のいずれの試料にも分析対象元素が含まれていたため、各元素の濃度が低かった 23-009 を添加回収試験用の試料として選択した。その結果、真度 97~105%、併行精度及び室内精度 6%未満となった(表 4)。これらの結果から、本分析法は十分な精確さをもって分析を行うことが可能であり、実態調査に用いることが妥当と考えられた。

2. 昆虫食試料の分析

マイクロ波分解/ICP-MS 法を用いて 23-001~23-007 及び 23-009 のカドミウム、鉛及びヒ素濃度

を分析した。結果を表 5 に示した。

カドミウム濃度は 0.01～0.14 mg/kg となり、最も高い値を示したのは 23-002 (ミルワーム) であった。我が国では、玄米及び精米に基準値「カドミウムとして 0.4 mg/kg」(平成 22 年 4 月 8 日食安発 0408 第 2 号) が設定されているが、いずれの試料も玄米及び精米の基準値を下回っていた。

鉛濃度は 0.01～0.19 mg/kg となり、最も高い値を示したのは、23-007 (コガタスズメバチ) であった。コガタスズメバチは主に昆虫を餌とするため、捕食した昆虫に由来するものと推測された。我が国では農産物に 1～5 mg/kg の基準値が設定されているが、いずれの試料もこれらの基準値を下回っていた。

総ヒ素濃度は 0.02～1.32 mg/kg となり、23-001 (カイコ) 及び 23-004 (ヨーロッパイエコオロギ) ではそれぞれ 0.86 mg/kg 及び 1.32 mg/kg であった。一般に、食品に含まれるアルセノベタイン等の有機ヒ素化合物よりも無機ヒ素化合物の方が毒性が高くとされているため、23-001 及び 23-004 の無機ヒ素濃度を分析した。その結果、23-004 では定量限界 (0.1 mg/kg) 未満となり、大部分が有機ヒ素であることが示された。一方、23-001 は 0.5 mg/kg と無機ヒ素濃度が高かった。23-001 は乾燥試料であることから、乾燥工程で原材料に含まれていたヒ素が濃縮されたものと考えられた。我が国では食品中の無機ヒ素に基準値は設定されていないが、CODEX では玄米及び精米に対してそれぞれ 0.35 mg/kg 及び 0.2 mg/kg の基準値が設定されており、23-001 はこれらより高い値であった。しかし、カイコの摂取量は玄米や精米と比べて圧倒的に少ないと考えられることから、早急な対策を講じる必要はないと考えられる。

II. 有害元素(水銀)

1. 性能評価

当所において従来から用いている加熱気化型水銀分析計による総水銀分析法の昆虫食試料への適用性を検討した。事前分析の結果、23-001～23-007 及び 23-009 のいずれの試料にも水銀が含まれていた。このため、水銀濃度が最も低かった 23-005 を添加回収試験用の試料として選択し、添加濃度 0.005 及び 0.2 mg/kg で 1 日 2 併行、5 日間の添加回収試験を行って分析法の性能を評価した。結果を表 6 に示した。真度 97～104%、併行精度 < 3%、室内精度 < 4% となったことから、本分析法は十分な精確さをもって 0.005 mg/kg までの分析を行うことが可能であり、実態調査に用いることが妥当と考えられた。

2. 昆虫食試料の分析

試料 23-001～23-007 及び 23-009 の総水銀を分析した結果を表 7 に示した。23-004 (ヨーロッパイエコオロギ) は 0.18 mg/kg であったが、その他の試料は 0.015 mg/kg 未満であった。いずれの試料も、魚介類に設定されている暫定的規制値「総水銀として 0.4 mg/kg」(昭和 48 年厚生省環乳第九九号) を下回っていることが確認された。水銀のうち、メチル水銀は魚介類に多く含まれ、妊娠中の女性が多く摂取すると胎児の脳神経系に影響を与えることが知られている。そこで、23-004 のメチル水銀濃度を分析した。その結果、0.08 mg/kg となり、総水銀及びメチル水銀のいずれも魚介類の暫定的規制値(昭和 48 年厚生省環乳第九九号) を下回っていることが確認された(表 8)。23-004 は、製品には明記されていないが、養殖された昆虫と考えられる。当該試料が他の試料と比較し、総水銀濃度が高値となった原因を明らかにするためには昆虫に与えた飼料についての情報が必要であるが、飼料についての情報は今回得られなかった。

III. 農薬

1. 抽出方法の検討

農産物中の残留農薬一斉分析では抽出溶媒としてアセトニトリルやアセトンを用いることが多い。しかし、昆虫食は試料によっては脂質含量や夾雑成分が多く、農産物の分析で一般的に用いられる抽出溶媒では抽出操作に問題が生じる可能性が考えられた。そこで、比較的脂質含量が高く(表 3)、且つ、乾燥試料で夾雑成分が多いと予想された 23-001~23-003 を用いてアセトニトリル及びアセトンで抽出し、操作性に問題がないか検討した。各試料をアセトニトリルまたはアセトンで 2 回ホモジナイズ抽出(抽出 1 回目 50 mL、2 回目 20 mL)を行った。なお、いずれも乾燥試料であるため、試料 10 g に対して水 20 mL を加えて 30 分間放置し、膨潤させた後、抽出を行った。その結果、アセトニトリルを用いた場合、脂質含量が高い 23-001 及び 23-002 では、抽出液を数時間放置すると油状物質の分離が見られた。アセトニトリルを用いた場合、油状物質の分離は、抽出溶媒量を 1 回目 100 mL、2 回目 50 mL としても見られた。これは脂質が多く、アセトニトリルに十分溶解しないためと考えられた。一方、アセトンを用いて抽出溶媒量を 1 回目 100 mL、2 回目 50 mL としたところ、油状物質の分離はほとんど見られなかった。しかしながら、乾燥試料では、抽出液にアセトンを加えて 200 mL に定容すると高極性と考えられる夾雑成分の析出が見られた。冷凍試料では抽出液にアセトンを加えて 200 mL に定容しても析出は見られなかった。乾燥試料は脂質だけではなく、その他の夾雑成分も非常に多いと考えられる。脂質はアセトンに溶解しやすいものの、高極性の夾雑成分は溶解しにくいいため、抽出液(水/アセトン)にアセトンを加えると、高極性の夾雑成分が析出しやすくなるものと考えられる。これらの結果から、(乾燥試料では水で膨潤

後、)アセトンを用いてホモジナイズ抽出し(抽出 1 回目 100 mL、2 回目 50 mL)、冷凍試料ではそのまま、乾燥試料では水 20 mL を加えた後、アセトンで 200 mL に定容することとした。

2. 精製方法の検討

(1) 脱脂方法

表 3 に示した通り、検討に用いた昆虫食試料の中には脂質含量が高いものもあるため、脱脂方法としてアセトニトリル/ヘキサン分配を検討した。農薬をアセトニトリル飽和ヘキサン 20 mL に溶解した後、ヘキサン飽和アセトニトリル 20 mL で抽出し、回収率を求めた。その結果、ヘキサン飽和アセトニトリルで 3 回抽出することで、ほとんどの農薬を回収できた。しかしながら、低極性農薬(aldrin(79%)、fenpropimorph(65%)及び hexachlorobenzene(65%))では 80%未満の低回収率となった。

そこで、多孔性ケイソウ土カラムを用いた精製を検討した。アセトニトリル飽和ヘキサン 3 mL で負荷し、ヘキサン飽和アセトニトリルで溶出した。その結果、ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL で hexachlorobenzene(55%)を除き、良好な回収率が得られ、aldrin や fenpropimorph ではアセトニトリル/ヘキサン分配よりも高い回収率が得られた。

アセトニトリル/ヘキサン分配と多孔性ケイソウ土カラム精製の精製効果を比較するため、23-001~23-007 及び 23-009 を用いて、精製前後での残渣重量を求めた(表 9)。その結果、アセトニトリル/ヘキサン分配では残渣の重量が 18~83%、多孔性ケイソウ土カラムによる精製では 26~92%減少し、23-005 を除き、両方法で精製効果に大きな差は認められなかった。23-005 は多孔性ケイソウ土カラムによる精製の方が残渣の除去率が高かった。いずれの精製方法も、23-001 や 23-002 のように脂質含量が高い乾燥試料だけではなく、23-009 のように水分含量が高く、脂質含量が低い試料につい

でも精製効果が認められた。これらの結果から、脂質含量によらず、すべての試料について多孔性ケイソウ土カラムを用いた精製を行うこととした。

(2) ミニカラム精製

残留農薬分析では、低極性夾雑成分を除去するために ODS ミニカラム、酸性夾雑成分を除去するために PSA や SAX 等の陰イオン交換ミニカラムを用いて精製することが多い。そこで、ODS、PSA 及び SAX の各ミニカラム(それぞれ InertSep C18、InertSep PSA 及び InertSep SAX)に加えて、ODS、PSA 及び SAX の充填剤が混合された InertSep VRA-PR、そして InertSep VRA-PR にアルミナが積層された InertSep AL-N/VRA-PR の精製効果を比較した。図 2 に 23-003 を各ミニカラムで精製後、GC-(EI)MS で Scan 測定した結果を示した。ODS、PSA 及び SAX ミニカラムを比較すると、PSA ミニカラムが最も夾雑成分のピークが小さく、精製効果が高かった。PSA ミニカラムと InertSep VRA-PR では、InertSep VRA-PR の方が夾雑成分の除去効果が高かった。さらに InertSep VRA-PR と InertSep AL-N/VRA-PR を比較すると、InertSep AL-N/VRA-PR の方が夾雑成分のピークが小さく、精製効果が高いことが示された。

そこで、InertSep AL-N/VRA-PR からの農薬の回収率を確認した。農薬をアセトニトリル 1 mL に溶解し、InertSep AL-N/VRA-PR に負荷後、アセトニトリル 10 mL で溶出した。その結果、GC-MS/MS 対象農薬では 141 化合物中 134 化合物で 80% 以上の回収率が得られた(図 3)。これに対し、LC-MS/MS 対象農薬で 80% 以上の回収率が得られたのは 144 化合物中 92 化合物となり、GC-MS/MS 対象農薬と比べて低回収率の農薬が多かった。そこで、LC-MS/MS 対象農薬について InertSep VRA-PR からの回収率を確認した。農薬をアセトニトリル 1 mL に溶解し、InertSep VRA-PR に負荷後、

アセトニトリル 10 mL で溶出した。その結果、144 化合物中 139 化合物で 80% 以上の回収率が得られた。これらの結果から、GC-MS/MS 対象農薬は InertSep AL-N/VRA-PR、LC-MS/MS 対象農薬は InertSep VRA-PR を用いて精製することとした。本方法で 23-001~23-007 及び 23-009 を精製したところ、最終試験溶液に含まれる残渣重量は多孔性ケイソウ土カラム精製後の残渣重量と比べて 1/10 以下となった。最終試験溶液 1 mL 当たりに含まれる残渣重量は、InertSep AL-N/VRA-PR 精製を行った場合は 0.1 mg 未満、InertSep VRA-PR 精製を行った場合は 0.7 mg 未満となり、InertSep AL-N/VRA-PR または InertSep VRA-PR を用いた精製は夾雑成分の除去効果が高いことが示された。

3. 妥当性評価試験

試料 23-003 を用いて添加濃度 0.01 ppm で 1 日 2 併行、5 日間の妥当性評価試験を行った。なお、定量はマトリックス検量線法で行った。

(1) 選択性

LC-MS/MS 対象農薬及び GC-MS/MS 対象農薬のいずれも妥当性評価ガイドライン¹⁾の目標値を満たし、選択性に問題はなかった。

(2) 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 10 及び 11、概要を図 4 に示した。LC-MS/MS 対象農薬では 144 化合物中 135 化合物、GC-MS/MS 対象農薬では 141 化合物中 134 化合物で妥当性評価ガイドライン¹⁾の真度の目標値(70~120%)を満たした。真度が 50% 未満となったのは 6 化合物であった。このうち、acephate は InertSep VRA-PR 精製、bromopropylate、dimethylvinphos (E) 及び edifenphos は InertSep AL-N/VRA-PR 精製、clofencet 及び propamocarb はケイソウ土カラム及び InertSep VRA-PR 精製での損失が真度が低い主な原因と考えられた。併行精度及び室内精度は、

真度の目標値を満たしたすべての農薬で目標値（併行精度 RSD 25%未満、室内精度 RSD 30%未満）を満たした。

(3) マトリックスの影響

試料マトリックスの測定への影響を評価するため、試料中濃度 0.01 ppm 相当での溶媒標準溶液に対するマトリックス添加標準溶液のピーク面積比を求めた。その結果、ピーク面積比（5 日間の平均値）が 0.70～1.20 の範囲となったのは、LC-MS/MS 対象農薬では 144 化合物中 123 化合物、GC-MS/MS 対象農薬では 141 化合物中 121 化合物であった（図 5）。これらの結果から、検討農薬の 85%以上ではマトリックスによる影響は小さく、本分析法は精製効果が高い方法であることが示唆された。しかしながら、一部の農薬ではマトリックスの影響が比較的大きいものもあったため、分析の際はマトリックスの影響を補正して定量する必要があると考えられた。

4. 昆虫食試料の分析

本検討で確立した分析法を用いて昆虫食試料（23-001～23-007 及び 23-009）を分析した。昆虫食は、昆虫の種類や加工の程度により夾雑成分が大きく異なるため、測定の際のマトリックスの影響も試料によって異なると考えられる。このため、溶媒標準溶液を用いた絶対検量線法では精確に定量できない可能性が考えられた。また、マトリックス検量線法による定量は適切なブランク試料がないと用いることができない。このようなことから、昆虫食試料の分析においては、標準添加法を用いて定量し、精確な分析値を求めることとした。

各試料を分析した結果、23-001（カイコ）において ametryn (0.05 mg/kg) 及び chlorofenapyr (0.04 mg/kg) が 0.01 mg/kg 以上検出された（表 12）。昆虫食には農薬の基準値は設定されていないため、（原材料に）一律基準 0.01 mg/kg が適用される。し

かし、23-001 は乾燥品であり、原材料の水分含量の情報がないため、一律基準を超過しているか否かは不明である。

IV. ダイオキシン類

1. 昆虫食試料の前処理法の検討

昆虫食試料の前処理方法として、ダイオキシン類測定方法ガイドラインに準じて当所で従来から実施している試験溶液調製方法²⁾（従来法）の適用性を検討した。従来法を昆虫食試料に適用した場合、アルカリ分解やヘキサン抽出操作において、昆虫の外骨格などの不溶物が操作の妨げになることが懸念されたため、従来法を昆虫食試料に適用する際の操作性を確認した。

昆虫には脂質が多く含まれると考えられるが、従来法で油脂類の試料を処理した場合、10 g 程度の油脂試料を前処理できることが確認されている³⁾。そこで、分析に使用する昆虫食試料中の脂質量が 10 g を超えないように供試料量を設定した。表 3 に示した各昆虫食試料の脂質含有量に応じて供試料量を設定し、シルクワームサナギ及びミルワームでは 25 g、ヨーロッパイエコオロギでは 50 g として検討した。

各試料を水酸化カリウム水溶液で 16 時間分解した後の写真を図 7. A に示した。各試料において、液面に一部昆虫の外骨格の不溶物が浮いているものの、全体的にはマーケットバスケット試料の 10 群（魚介類）及び 11 群（畜肉・卵類）と同様の状態であったことから、水酸化カリウム溶液の用量と処理時間は問題ないことが確認された。昆虫の外骨格は、キチン及びキチン結合性タンパク質を主成分とするマトリクスであり⁴⁾、ダイオキシン類汚染物を含む可能性が低いため、アルカリ分解時に不溶でも、昆虫食中のダイオキシン類の濃度調査に影響を及ぼさないと考えられた。一方で、図 7. B に示

したように、ヘキサンで抽出した際には、微細化されたパウダー状の試料であるヨーロッパエコオロギでは、微細な不溶物が振とうによって生じたエマルジョンに懸濁し、ヘキサン層と水層の境界が見えにくくなることが認められた。そこで、細心の注意を払い、水層を除去した後、塩化ナトリウム水溶液中での洗浄時(2回目)に少量の硫酸を加えたところ、図 7. C に示したように、エマルジョンが消えてヘキサン層と水層を明確に分離することができた。また、3種類の昆虫食試料とも、ヘキサン抽出の過程において、不溶物が分液ロートの活栓に詰まりやすいことが認められたものの、操作全体に大きな支障がないことを確認した。以上の検討から、従来法は昆虫食試料に対しても適用可能と考えられた。

2. 従来法適用時の添加回収試験

2-1. 添加回収試験用試料の選定

昆虫食試料に対する従来法の妥当性を検証するため、添加回収試験を実施した。添加回収試験に用いる昆虫食試料を選定するため、3種類の昆虫食試料中のダイオキシン類濃度(バックグラウンド)を測定した。各昆虫食試料中のダイオキシン類の実測濃度を表 13 に示した。各異性体の濃度範囲は、シルクワームサナギで 0.023~16 pg/g、ミルワームで 0.017~5.0 pg/g、ヨーロッパエコオロギで 0.014~106 pg/g であった。総ダイオキシン濃度は、シルクワームサナギで 42 pg/g、ミルワームで 11 pg/g、ヨーロッパエコオロギで 270 pg/g であり、この3種類の昆虫食試料の中ではミルワームの総ダイオキシン濃度が最も低いことが確認された。また、シルクワームサナギとミルワームと比較して、ヨーロッパエコオロギでは OCDD や PCB118 などの一部の異性体濃度が高い値を示し、総ダイオキシン濃度も高い値を示した。昆虫食試料の原料となる昆虫の飼育環境や食性が異なるため、各試料中のダイオキシン濃度が大きく異なる結果となったと

考えられた。なお、2005年にWHOにより定められた毒性等価係数(TEF)を用いて各試料の毒性当量(TEQ)濃度を算出すると、シルクワームサナギで 0.29 pg TEQ/g、ミルワームで 0.064 pg TEQ/g、ヨーロッパエコオロギで 0.24 pg TEQ/g であった。ダイオキシン類濃度が高いとされる魚介類と比較すると、検討した3種類の昆虫食試料中のダイオキシン類毒性当量濃度は、令和2年度の東京都の調査⁵⁾で報告されている魚介類(0.40~2.07 pg-TEQ/g)より低い値であった。

本検討から、添加回収試験にはダイオキシン類のバックグラウンド濃度が最も低かったミルワーム試料を用いることとした。

2-2. 添加回収試験

添加回収試験におけるダイオキシン類の各異性体の添加濃度は、バックグラウンドの5~10倍程度となるようにダイオキシン類測定方法ガイドラインの目標検出下限濃度の10倍とした(ただし、一部の異性体ではバックグラウンド濃度の5倍未満となっている。)。添加回収試験の結果を表 14 に示した。各異性体の平均添加回収率は 84.1%~111.9%、併行精度は 1.9%~13.3%の範囲であった。農林水産省が策定した「分析法の妥当性確認に関するガイドライン」により⁶⁾、分析対象物質の濃度が 0.001 mg/kg 以下の場合には、食品中に含まれる化学物質の分析に求められる回収率は 40%~120%と定められている。従来法を用いた添加回収試験で得られた回収率はその範囲内にあり、昆虫食試料のダイオキシン類分析法として従来法が適用可能であることが確認された。

D. 結論

昆虫食に含まれる有害化学物質の汚染実態調査に向けて、有害元素、ダイオキシン類及び農薬の分析法を検討した。

有害元素の分析法として、マイクロ波分解/ICP-MS 法を用いたカドミウム、鉛及びヒ素分析法及び加熱気化型水銀分析計を用いた総水銀分析法の昆虫食への適用性を検討した。分析法の性能を評価したところ、いずれも良好な結果が得られ、実態調査のための分析法として妥当であることが示された。

昆虫食を対象とした新規農薬分析法として、LC-MS/MS 及び GC-MS/MS を用いた農薬一斉分析法を開発した。妥当性評価試験を行ったところ、285 化合物中 269 化合物で妥当性評価ガイドラインの目標値を満たし、一部の農薬を除き、実態調査のための分析法として妥当と考えられた。

ダイオキシン類分析法として、従来から当所で使用している分析法(従来法)の昆虫食に対する適用性を検討した。その結果、前処理の操作性に大きな問題はないことが確認され、添加回収試験においても良好な結果が得られたことから、従来法は昆虫食のダイオキシン類分析法として適用可能であることが示された。

来年度以降は、本年度確立した分析法を用いて国内に流通する昆虫食の汚染実態調査を行う予定である。

E. 参考文献

- 1) 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて、厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知(平成 19 年 11 月 15 日、食安発第 1115001 号)(平成 22 年 12 月 24 日一部改正、食安発 1224 第 1

号)

- 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、食安監発第 0228003(平成 20 年 2 月 28 日)
- 3) 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(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)
- 4) 朝野維起. 昆虫外骨格内に存在するメラニン合成酵素. 比較生理生化学. **30**、106-114 (2013).
- 5) 角田徳子、大久保智子、中嶋順一、守安貴子. 東京湾産魚介類中の残留ダイオキシン類濃度調査結果(令和 2 年度). Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health. **72**, 305-311, (2021).
- 6) 分析法の妥当性確認に関するガイドライン、農林水産省 令和元年 10 月

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 検討に用いた昆虫食

No.	昆虫	原産国	パウダー/姿	乾燥/冷凍	加熱の有無	1匹当たりの重さ (mg、平均*)
23-001	カイコ(さなぎ、まゆ無し)	タイ	姿	乾燥	加熱	267
23-002	ミルワーム	タイ	姿	乾燥	加熱	32
23-003	ヨーロッパイエコオロギ	タイ	パウダー	乾燥	加熱	—
23-004	ヨーロッパイエコオロギ	日本	姿	冷凍	非加熱	463
23-005	カイコ(幼虫)	日本	姿	冷凍	非加熱	3028
23-006	ジャイアントミルワーム	日本	姿	冷凍	非加熱	627
23-007	コガタズメバチ	日本	姿	冷凍	非加熱	609
23-009	ツムギアリ	タイ	姿	冷凍	非加熱	141(大型)、5(小型)

* n=5

表 2 標準添加法における試験溶液の調製

	無添加試験溶液	添加試験溶液			
農薬添加量	0	0.025 mg/kg相当	0.05 mg/kg相当	0.075 mg/kg相当	0.1 mg/kg相当
試験溶液量 (μL)	100	100	100	100	100
標準溶液濃度 (μg/mL)	—	0.02			
標準溶液添加量 (μL)	0	25	50	75	100
溶媒添加量 (μL)	100	75	50	25	0
最終試験溶液量 (μL)	200	200	200	200	200



図1 均質化前及び均質化後の写真

上段 粉碎前、下段 粉碎後

23-003 はパウダー製品のため、そのまま分析に供した。

表 3 水分及び脂質含量

No.	昆虫	乾燥/冷凍	加熱の有無	水分(%)	脂質(%)
23-001	カイコ(さなぎ、まゆ無し)	乾燥	加熱	2.1	36.3
23-002	ミルワーム	乾燥	加熱	2.1	33.0
23-003	ヨーロッパイエコオロギ	乾燥	加熱	4.5	18.2
23-004	ヨーロッパイエコオロギ	冷凍	非加熱	69.8	5.2
23-005	カイコ(幼虫)	冷凍	非加熱	85.4	2.0
23-006	ジャイアントミルワーム	冷凍	非加熱	58.6	17.5
23-007	コガタズメバチ	冷凍	非加熱	67.0	3.4
23-009	ツムギアリ	冷凍	非加熱	82.6	5.9

表 4 カドミウム、鉛及びヒ素の性能評価結果

	添加濃度(mg/kg)	真度(%)	併行精度(RSD%)	室内精度(RSD%)
カドミウム	0.1	98	2.8	3.0
鉛	0.1	97	5.1	5.1
ヒ素	0.1	105	2.2	3.5

表 5 昆虫食 8 製品の cadmium、鉛及びヒ素濃度

No.	昆虫	乾燥/ 冷凍	分析値(mg/kg)			
			カドミウム	鉛	ヒ素	無機ヒ素
23-001	カイコ(サナギ、まゆ無し)	乾燥	0.03	0.05	0.86	0.5
23-002	ミルワーム	乾燥	0.14	0.02	0.11	—
23-003	ヨーロッパイエコオロギ	乾燥	0.03	0.03	0.04	—
23-004	ヨーロッパイエコオロギ	冷凍	0.01	0.01	1.32	<LOQ*
23-005	カイコ(幼虫)	冷凍	0.01	0.04	0.02	—
23-006	ジャイアントミルワーム	冷凍	0.02	0.01	0.07	—
23-007	コガタズメバチ	冷凍	0.03	0.19	0.33	—
23-009	ツムギアリ	冷凍	0.02	0.03	0.02	—

* LOQ 0.1 mg/kg

表 6 総水銀の性能評価結果

添加濃度 (mg/kg)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
0.005	104	0.8	3.5
0.2	97	2.5	2.5

表 7 昆虫食 8 製品の総水銀濃度

No.	昆虫	分析値 (mg/kg)*
23-001	カイコ (サナギ、まゆ無し)	0.0031
23-002	ミルワーム	0.0015
23-003	ヨーロッパエコオロギ	0.0028
23-004	ヨーロッパエコオロギ	0.180
23-005	カイコ (幼虫)	0.0006
23-006	ジャイアントミルワーム	0.0031
23-007	コガタズメバチ (成虫)	0.0137
23-009	ツムギアリ	0.0026

表 8 メチル水銀濃度

No.	昆虫	分析値 (mg/kg)
23-004	ヨーロッパエコオロギ	0.08

表 9 アセトニトリル・ヘキサン分配及び多孔性ケイソウ土カラム精製による精製効果

	除去率(%)*	
	アセトニトリル・ヘキサン分配	多孔性ケイソウ土カラム精製
23-001	83	85
23-002	82	92
23-003	45	56
23-004	24	30
23-005	18	64
23-006	30	26
23-007	49	68
23-009	82	92

*(精製前重量-精製後重量)/精製前重量×100(%)

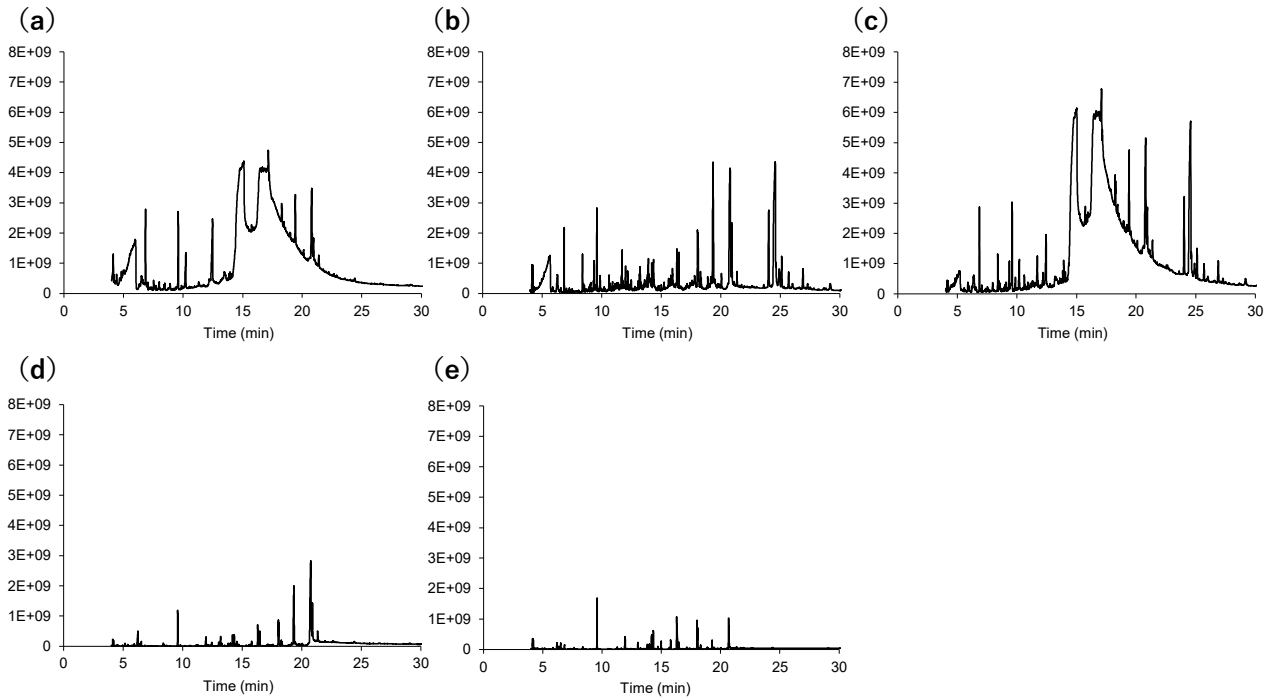


図2 ミニカラム*精製後の GC-(EI)MS の TIC クロマトグラム (m/z 40-500)

試料:23-003

*(a)InertSep C18(1000 mg)、(b)InertSep PSA(500 mg) (c)InertSep SAX(500 mg)、(d)InertSep VRA-PR(1600 mg)、(e) InertSep AL-N/VRA-PR(400 mg/1600 mg)

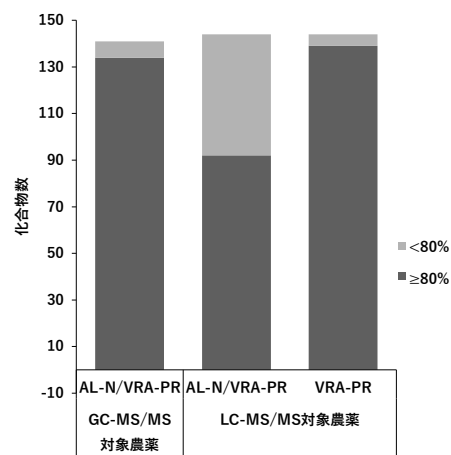
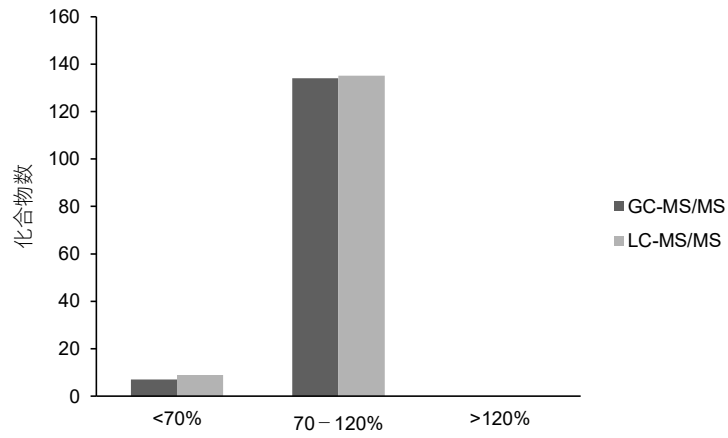


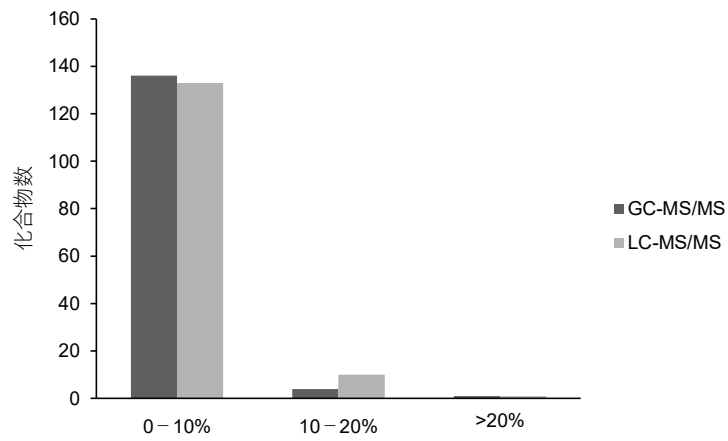
図3 各農薬のミニカラム*からの回収率

* InertSep AL-N/VRA-PR 及び InertSep VRA-PR

(a)



(b)



(c)

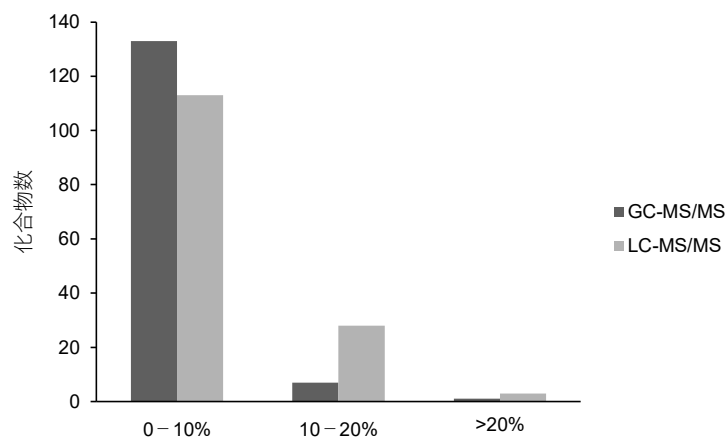


図4 妥当性評価結果の概要

(a)真度、(b)併行精度、(c)室内精度

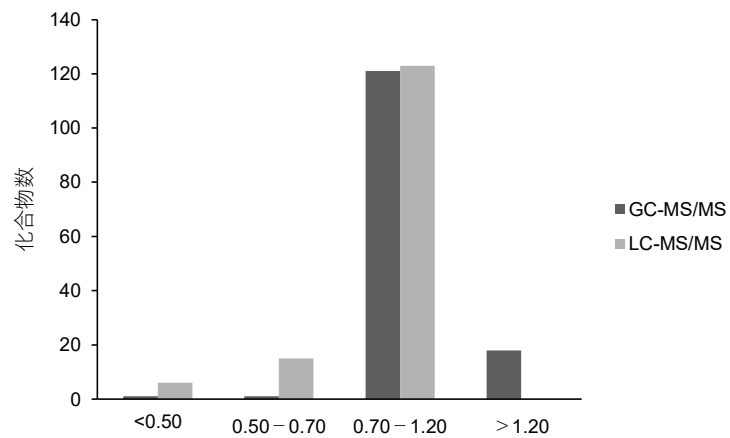


図 5 マトリックスの影響*

*試料中濃度 0.01 mg/kg 相当における溶媒標準溶液に対するマトリックス標準溶液のピーク面積比

表 10 農薬の妥当性評価試験結果 (LC-MS/MS 対象農薬)

分析対象化合物	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
2-(1-Naphthyl)acetamide	92	2	3
3-Hydroxycarbofuran	82	4	6
Acephate	11	39	78
Acetamidrid	78	4	5
Anilofos	100	2	4
Azamethiphos	77	2	19
Bendiocarb	98	8	16
Benzofenap	96	3	3
Bitertanol	105	6	9
Boscalid	96	4	5
Bromacil	66	10	10
Butafenacil	98	2	3
Carbaryl	94	7	12
Carbendazim	87	3	7
Carbofuran	100	5	10
Carboxin	86	4	4
Carpropamid	98	3	5
Chlorfluazuron	96	5	5
Chloridazon	75	6	7
Chloroxuron	98	5	5
Chromafenozide	100	10	10
Clofencet	0	0	96
Clofentezine	65	10	16
Clomeprop	94	4	5
Cloquintocet mexyl	101	2	4
Clothianidin	72	8	10
Coumaphos	100	6	6
Cumyluron	98	3	3
Cyazofamid	95	4	4
Cyflufenamid	99	3	4
Cymoxanil	81	5	15
Cyproconazole	99	2	3
Daimuron	99	4	4
Demeton-S-methyl sulfoxide	77	5	9
Dicrotophos	85	5	9
Difenoconazole	97	2	5
Diflubenzuron	98	4	4
Dimethirimol	89	3	3
Dimethomorph	93	1	3
Dinotefuran	55	12	27
Diuron	93	3	3
Epoxiconazole	96	2	3
Ethiofencarb	95	10	13
Ethiprole	92	8	8
Etobenzanid	99	3	5
Fenamidone	101	3	3
Fenamiphos	99	3	4
Fenbuconazole	96	3	5
Fenobucarb	100	5	10
Fenoxaprop ethyl	94	6	6

分析対象化合物	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
Fenoxycarb	102	2	4
Fenpyroximate (E)	87	9	14
Fenpyroximate (Z)	104	3	11
Fensulfothion	95	3	4
Ferimzone	96	3	3
Fluacrypyrim	103	3	11
Fluazifop-butyl	96	5	6
Fluazinam	88	6	17
Flufenacet	100	2	4
Flufenoxuron	114	12	18
Fluridone	91	4	4
Flusilazole	101	2	3
Fosthiazate	98	2	4
Furametpyr	95	3	3
Furathiocarb	80	7	11
Hexaconazole	97	2	4
Hexaflumuron	93	18	18
Hexazinone	91	4	4
Hexythiazox	91	6	9
Imazalil	95	7	7
imazamethabenz methyl	94	4	4
Imibenconazole	105	4	6
Imidacloprid	73	7	9
Indanofan	98	3	6
Iprovalicarb	100	2	3
Isoprocarb	96	6	6
Isoxathion oxon	92	4	4
Lactofen	95	6	9
Lenacil	97	3	4
Linuron	100	4	6
Lufenuron	112	5	9
Mandipropamid	94	2	3
Mepanipyrim	96	3	3
Metconazole	99	3	3
Methabenzthiazuron	98	2	3
Methamidophos	64	7	11
Methiocarb	101	5	8
Methoxyfenozide	99	9	17
Mevinphos	89	7	14
Monocrotophos	77	8	10
Monolinuron	98	3	3
Myclobutanil	97	3	4
Naproanilide	100	3	4
Napropamide	98	4	4
Norflurazon	94	2	2
Novaluron	107	8	9
Omethoate	70	9	14
Oryzalin	101	8	15
Oxadixyl	87	3	3
Oxamyl	67	13	17

表 10 (つづき)

分析対象化合物	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
Oxaziclomefone	101	7	9
Paclbutrazol	98	2	2
Pencycuron	98	3	3
Phenmedipham	87	3	7
Phosphamidon	94	4	7
Phoxim	94	5	11
Pirimicarb	98	3	3
Pretilachlor	99	2	3
Prochloraz	99	4	5
Profenofos	94	3	5
Prometryn	100	4	4
Propamocarb	14	14	16
Propaquizafop	93	5	5
Propetamphos	96	13	13
Propiconazole	95	5	7
Pyraclonil	94	1	3
Pyraclostrobin	99	6	6
Pyriftalid	94	5	5
Pyroquilon	89	4	5
Quinoclamine	90	3	5
Quizalofop ethyl	94	2	3
Simazine	98	3	3
Simeconazole	97	2	4
Simetryn	98	2	3
Spinosyn A	95	10	18
Spinosyn D	95	5	12
Tebuconazole	97	3	3
Tebufenozide	101	18	18
Tebuthiuron	96	4	4
Teflubenzuron	107	3	7
Tetraclorvinphos	91	7	10
Tetraconazole	97	5	6
Thiabendazole	86	4	5
Thiacloprid	78	5	7
Thiamethoxam	60	9	9
Thifluzamide	104	6	7
Tolfenpyrad	98	3	4
Triadimenol	98	3	4
Tricyclazole	83	4	7
Triflumizole	100	4	7
Triflumizole metabolite	94	5	7
Triflumuron	104	5	12
Triticonazole	96	4	5
XMC	92	10	10

表 11 農薬の妥当性評価試験結果(GC-MS/MS 対象農薬)

分析対象化合物	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
Acetochlor	93	3	5
Acrinathrin	94	3	5
Alachlor	96	2	4
Aldrin	80	5	5
Ametryn	96	3	6
Atrazine	83	6	6
Azinphos methyl	91	3	6
Azoxystrobin	93	4	5
Benalaxyl	97	3	5
Benfluralin	89	4	5
Benfuresate	94	3	5
Benoxacor	94	4	4
α -BHC	86	3	3
β -BHC	96	4	4
γ -BHC	90	4	4
δ -BHC	94	4	6
Bifenox	96	4	5
Bifenthrin	93	4	6
Bromobutide	92	6	6
Bromopropylate	29	24	36
Bupirimate	96	1	3
Buprofezin	95	5	5
Butachlor	95	2	4
Butamifos	97	5	6
Cadusafos	90	3	6
Cafenstrole	91	5	7
Chlordane (<i>cis</i>)	93	4	5
Chlordane (<i>trans</i>)	96	4	5
Chlorfenapyr	92	9	9
Chlorfenvinphos (<i>E</i>)	82	5	6
Chlorfenvinphos (<i>Z</i>)	89	6	6
Chlorpropham	93	3	4
Chlorpyrifos	91	4	4
Chlorpyrifos methyl	89	3	6
Chlorthal dimethyl	92	6	6
Clomazone	90	5	5
Cyanazine	93	4	4
Cyfluthrin	96	3	4
Cyhalothrin	96	2	4
Cypermethrin	85	5	8
Cyprodinil	95	4	4
<i>p,p'</i> -DDD	95	3	6
<i>p,p'</i> -DDE	92	6	6
<i>o,p'</i> -DDT	93	5	5
<i>p,p'</i> -DDT	93	7	7
Deltamethrin	105	2	4
Diazinon	79	6	12
Dichloran	90	4	5
Dieldrin	93	11	12
Diflufenican	95	3	5

分析対象化合物	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
Dimethametryn	94	7	8
Dimethenamid	94	6	7
Dimethoate	89	2	3
Dimethylvinphos (<i>E</i>)	47	7	11
Dimethylvinphos (<i>Z</i>)	62	5	9
Disulfoton	91	3	3
Edifenphos	26	10	13
α -Endosulfan	89	14	16
β -Endosulfan	93	3	5
Endrin	93	4	4
EPN	94	5	6
Esprocarb	79	8	9
Ethion	97	4	6
Ethoprophos	84	7	7
Etofenprox	95	5	5
Etoxazole	96	5	5
Fenarimol	62	12	13
Fenitrothion	93	4	4
Fenoxanil	95	3	4
Fenpropathrin	98	5	6
Fenpropimorph	79	5	7
Fenvalerate	94	4	4
Fipronil	95	6	7
Flamprop methyl	97	5	5
Flucythrinate	98	4	5
Fludioxonil	95	3	4
Fluquinconazole	94	4	5
Flutolanil	89	4	4
Fluvalinate	103	3	4
Fthalide	73	7	7
Heptachlor	86	6	6
Heptachlor <i>endo</i> -epoxide	92	6	6
Heptachlor <i>exo</i> -epoxide	92	8	8
Hexachlorobenzene	61	9	9
Indoxacarb	92	4	5
Iprobenfos	97	3	7
Isofenphos	93	4	4
Isofenphos oxon	85	6	8
Isoprothiolane	95	2	3
Isoxathion	93	4	5
Kresoxim methyl	95	5	5
Malathion	77	7	8
Mefenacet	93	4	6
Mefenpyr diethyl	96	4	4
Mepronil	98	3	5
Metalaxyl	94	5	7
Methidathion	95	7	7
Methoxychlor	95	3	5
Metolachlor	94	6	7
Oxadiazon	94	5	5

表 11 (つづき)

分析対象化合物	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
Parathion	92	4	4
Parathion methyl	93	4	4
Penconazole	78	6	6
Pendimethalin	94	3	5
Permethrin	92	3	5
Phenothrin	96	4	5
Phenthoate	96	6	6
Phosalone	94	4	5
Phosmet	82	5	7
Piperonyl butoxide	96	5	5
Pirimiphos methyl	95	5	7
Procymidone	95	3	3
Propoxur	95	6	10
Propyzamide	94	6	7
Prothiofos	90	8	8
Pyraclofos	56	6	8
Pyraflufen ethyl	95	3	3
Pyributicarb	97	8	9
Pyridaben	96	3	5
Pyrimethanil	79	3	9
Pyriminobac methyl (E)	94	4	5
Pyriminobac methyl (Z)	97	5	5
Pyriproxyfen	94	3	7
Quinalphos	95	4	5
Quinoxifen	97	3	4
Quintozene	83	3	3
Silafluofen	97	4	5
Tebufenpyrad	97	5	6
Tefluthrin	91	5	6
Terbufos	87	4	5
Tetradifon	95	2	4
Thenylchlor	90	6	6
Thiobencarb	94	3	3
Tolclofos methyl	90	6	8
Triadimefon	92	5	7
Triallate	87	7	14
Triazophos	94	4	4
Tribuphos	84	6	9
Trifloxystrobin	95	6	7
Trifluralin	89	3	3
Vinclozolin	90	4	5

表 12 昆虫食から検出された農薬

試料	昆虫	国	乾燥/冷凍	農薬	分析値 (mg/kg)
23-001	カイコ (さなぎ、まゆ無し)	タイ	乾燥	Ametryn	0.05
				Chlorofenapyr	0.04

表 13 各昆虫食試料中のダイオキシン類異性体の濃度

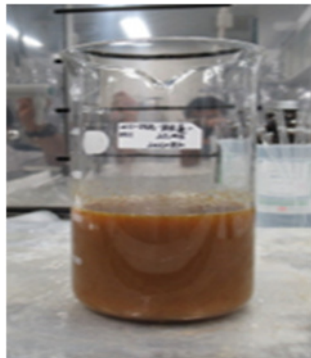
			濃度 (pg/g)		
			23-001 シルクワーム サナギ	23-002 ミルワーム	23-003 ヨーロッパイエ コオロギ
	2378-TCDD				0.014
	12378-PeCDD		0.033	0.019	0.019
	123478-HxCDD		0.023		
PCDDs	123678-HxCDD		0.031	0.061	0.20
	123789-HxCDD		0.023	0.094	0.053
	1234678-HpCDD		0.19	0.14	6.9
	OCDD		0.88	1.4	67
	2378-TCDF		0.29	0.024	0.15
	12378-PeCDF		0.14	0.017	0.046
	23478-PeCDF		0.097	0.018	0.045
	123478-HxCDF		0.11	0.023	0.038
PCDFs	123678-HxCDF		0.097	0.038	0.036
	123789-HxCDF				
	234678-HxCDF		0.076	0.023	0.055
	1234678-HpCDF		0.13	0.033	0.15
	1234789-HpCDF				
	OCDF		0.051		0.11
	33' 44' -TCB	#77	16	1.7	17
non-ortho PCBs	344' 5-TCB	#81	0.85		0.68
	33' 44' 5-PeCB	#126	1.5	0.10	0.43
	33' 44' 55' -HxCB	#169	0.18		
	233' 44' -PeCB	#105	6.3	2.1	43
	2344' 5-PeCB	#114	1.2		1.9
	23' 44' 5-PeCB	#118	11	5.0	106
mono-ortho PCBs	2' 344' 5-PeCB	#123			2.4
	233' 44' 5-HxCB	#156	1.5		13
	233' 44' 5' -HxCB	#157			2.9
	23' 44' 55' -HxCB	#167	1.1		6.6
	233' 44' 55' -HpCB	#189			1.2
Total PCDDs+PCDFs			2.2	1.9	75
Total Co-PCBs			40	9.0	195
Total PCDDs+PCDFs+Co-PCBs			42	11	270

*空欄は検出下限値以下を意味する

表 14 ミルワーム試料を用いた添加回収試験 (n=3)

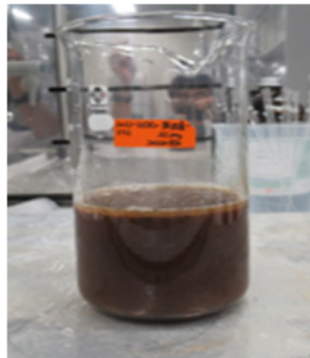
		添加濃度 (pg/g)	回収率 (%)				
			1	2	3	Mean	RSD
PCDDs	2378-TCDD	0.1	103.9	117.0	105.4	108.8	6.6
	12378-PeCDD	0.1	114.3	101.6	103.8	106.5	6.4
	123478-HxCDD	0.2	103.4	98.7	99.5	100.5	2.5
	123678-HxCDD	0.2	105.9	110.5	116.6	111.0	4.8
	123789-HxCDD	0.2	111.5	94.2	96.7	100.8	9.3
	1234678-HpCDD	0.2	114.9	107.4	113.3	111.9	3.5
	OCDD	0.5	92.7	87.5	72.1	84.1	12.7
PCDFs	2378-TCDF	0.1	96.7	78.2	101.4	92.1	13.3
	12378-PeCDF	0.1	100.6	93.4	95.7	96.6	3.8
	23478-PeCDF	0.1	103.2	87.7	100.7	97.2	8.5
	123478-HxCDF	0.2	107.3	112.2	101.8	107.1	4.9
	123678-HxCDF	0.2	103.0	96.0	97.9	99.0	3.7
	123789-HxCDF	0.2	119.6	97.0	109.2	108.6	10.4
	234678-HxCDF	0.2	108.7	122.6	103.7	111.7	8.8
	1234678-HpCDF	0.2	97.1	90.2	96.7	94.7	4.1
	1234789-HpCDF	0.2	98.7	107.4	112.2	106.1	6.4
OCDF	0.5	96.9	100.9	96.6	98.2	2.5	
non-ortho PCBs	33'44'-TCB #77	1	94.3	104.8	94.9	98.0	6.0
	344'5-TCB #81	1	110.6	107.6	100.4	106.2	4.9
	33'44'5-PeCB #126	1	103.2	108.7	98.8	103.6	4.8
	33'44'55'-HxCB #169	1	101.9	99.5	90.1	97.2	6.4
mono-ortho PCBs	233'44'-PeCB #105	10	113.9	99.0	99.2	104.0	8.2
	2344'5-PeCB #114	10	99.1	94.3	96.1	96.5	2.5
	23'44'5-PeCB #118	10	103.6	99.9	102.8	102.1	1.9
	2'344'5-PeCB #123	10	97.3	98.8	92.8	96.3	3.3
	233'44'5-HxCB #156	10	105.5	107.6	99.8	104.3	3.9
	233'44'5'-HxCB #157	10	108.3	99.2	105.1	104.2	4.4
	23'44'55'-HxCB #167	10	105.3	102.1	94.0	100.5	5.8
	233'44'55'-HpCl #189	10	103.0	93.8	101.8	99.6	5.0

A. 試料のアルカリ分解終了時



23-001

シルクワームサナギ



23-002

ミルワーム



23-003

ヨーロッパエコオロギ

B. ヘキサンを添加して振とう後の静置時



23-001

シルクワームサナギ



23-002

ミルワーム



23-003

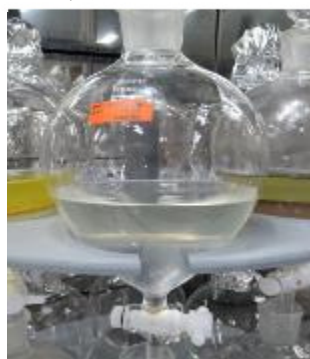
ヨーロッパエコオロギ

C. 塩化ナトリウム水溶液で洗浄後に硫酸を少量添加し静置時



23-001

シルクワームサナギ



23-002

ミルワーム



23-003

ヨーロッパエコオロギ

図 7. 試料前処理の写真