

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)
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。

(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) トータルダイエツ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ツト(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0.40 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) トータルダイエツ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、5.4 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5.0 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9,889~647,223と十分に大きかった。

(1-3) トータルダイエツ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)分析法の基礎検討を行った。認証標試料(魚試料)をLC-MS/MSを用いて分析した結果、中鎖PFASの分析値はいずれも付与値の95%信頼区間内に収まった。また、食品4種を用いた添加回収試験を実施した結果、中鎖PFASについて70~120%の回収率が得られ、相対標準偏差は15%以内と良好であった。さらに、長鎖PFASの分析条件を検討し、課題の抽出を試みた。

(1-3-2) トータルダイエツ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

昨年度と今年度に作製した2地域(関西及び関東地区)のTD試料におけ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)の含有量をLC-MS/MSにより分析し、各分子種の国民平均一日摂取量を推定した。体重(50 kgと仮定)あたりの一日摂取量(Lower-bound~Upper-bound)は、PFOSでは0.40~3.3 ng/kg bw/day、PFOAでは0.049~1.3 ng/kg bw/day、PFHxSでは0.025~0.38 ng/kg bw/day、PFNAでは0.097~1.4 ng/kg bw/dayの範囲で推定された。PFOS及びPFOAの摂取量推定値は、食品安全委員会が示したTDI(20 ng/kg bw/day)の2.0~16%及び0.24~6.6%に相当した。

(1-4) 乳幼児の一食分試料を用いたポリ塩化ビフェニル摂取量調査

一食分試料のPCBs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PCBs摂取量を推定した。一食分試料からの総PCBs摂取量の平均値(範囲)は、乳児で17 ng/食(4.1~226 ng/食)、幼児で99 ng/食(6.9~1,422 ng/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6倍程度高かった。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、一食分試料からの総PCBs摂取量(平均値)の日本の暫定一日摂取許容量に占める割合は0.2%以下であった。NDL-PCBsの摂取量の平均値(範囲)は、乳児で16 ng/食(3.9~206 ng/食)、幼児で92 ng/食(6.7~1,314 ng/食)であった。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、一食分試料からの各異性体の摂取量(平均値)に対するMOEは、乳児で35,727~2,000,875、幼児で5,594~416,273であり、リスク管理の優先度の目安となる100よりも十分に大きい値であった。

(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41元素および5化学種の全国・全年齢層における平均ばく露量(推定一日ばく露量)を推定し、各元素類のばく露量及び、各元素類のばく露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、推定一日ばく露量とHBGVの比(ハザード比、HQ)を求めた。その結果、HQはiAs(1.07-1.50)、Ni(0.14-1.02)、Cd(0.29-0.81)、Mo(0.67)、Mn(0.51)、Me-Hg(0.27-0.41)、Ba(0.04-0.39)、Al(0.17-0.36)、B(0.12-0.25)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ばく露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についてより詳細な検討を行えるよう、簡易分析法を用いて精白米中iAs濃度の地域差についても検討した。また、幼児を対象とした鉛の確率論的ばく露評価を行うとともに、喫食量算出法の違いがばく露量推定に与える影響について検討した。

(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を用いた食品中のダイオキシン類分析の検討

GC-MS/MSの測定条件を改良した上で、畜水産物を対象にGC-MS/MSを用いたダイオキシン類分析法の性能評価を実施した。ブリ、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、ブリで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。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認証値(又は参考値)の平均値±2SDの範囲内であり、良好な結果であった。ただし、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。

(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、LC-MS/MS を用いて食品中の BT を分析するための前処理法について検討した。BT を試料からメタノールで抽出し、塩化ナトリウム溶液及びヘキサンを加えて、有機層に転溶した後、5%含水シリカゲルカラム及びフロリジルミニカラムで精製した。検討した前処理法により、魚試料 4 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(76.8%~114.0%)と併行精度(<12%)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。

(3-3) 食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

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検討した。APGC-MS/MS を用いて 18 種の OPFRs を一斉に定量可能な測定方法を検討した結果、昨年度に検討した LC-MS/MS の方が測定感度に優れていた。LC-MS/MS 測定の前処理として、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精製法について検討した。TD 試料(7 群(緑黄色野菜)、10 群(魚介類)、13 群(調味料類))を対象に OPFRs の添加回収試験を行った結果、10 群における 4 種の OPFRs を除いて 50%以上の回収率が得られた。回収率が低かった OPFRs については、LC-MS/MS 測定時に試料マトリックスの影響を受けていると考えられたため、食品群によっては更なる精製を考慮する必要がある。

(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 5.95 ± 2.05 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が、昨年度との比較では、ほぼ横ばいしないし極わずかに上昇していたが、統計学的有意差は認めなかった。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。1 歳児を対象に調査を行った結果、現在の濃度レベルでの母乳中ダイオキシン類では、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) 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。

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

畝山 智香子

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

高附 巧、張 天齊、足立利華、五十嵐 敦子、
鍋師裕美、山崎由貴、高橋未来、柏原奈央、
北山育子、中村公亮、登田美桜

北海道立衛生研究所

青柳直樹、市橋大山

新潟県保健環境科学研究所

吉崎 麻友子

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

高橋京子、石井敬子、森田昌弘

名古屋市衛生研究所

宮崎仁志、高木恭子、勝原美紀

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

當間一晃、喜屋武 千早

福岡県保健環境研究所

佐藤 環、飛石和大、古閑豊和、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、真宮彩乃、

立命館大学薬学部薬学科

高山卓大、加藤彩花

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、トータルダイエツト(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、摂取量推定に必要な分析法を検討した。さらに、リスク管理の優先順位付けに必要な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。

(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)トータルダイエツ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)トータルダイエツ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)トータルダイエツ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)トータルダイエツ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ポリ塩化ビフェニル摂取量調査

(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

(3-2) 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

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) トータルダイエツ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 (TEF) 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。

(1-2) トータルダイエツ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攪拌した。このアルカリ分解液を分液ロートに移した後、水及びヘキサンを加え、振とう抽出した。静置後、ヘキサン層を分取し、水層にヘキサンを加え同様の操作を 2 回行った。ヘキサン抽出液を合わせ、2%塩化ナトリウム溶液を加えて緩やかに揺り動かす、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 サイエントフィック) 内径 0.25 mm×60 m

注入方式:スプリットレス

注入口温度:280°C

注入量:2.0 µL

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

キャリアーガス:ヘリウム(流速:1.0 mL/分)

MS 導入部温度:300°C

イオン源温度:290°C

イオン化法:EI ポジティブ

イオン化電圧:38 eV

イオン化電流:600 µA

加速電圧:~10.0 kV

分解能:10,000 以上

測定モード:SIM

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°C、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 に希釈したものを抽出液とした。次に、固相抽出カラム InertSep WAX FF (150 mg/6 mL, GL サイエンス社製) を用いて、試料の精製や濃縮を行った。まず、0.5% トリエチルアミン含有メタノール 5 mL、メタノール 5 mL、酢酸緩衝液 5 mL を通液し、コンディショニングを行った。さらに、食品の抽出液約 10 mL を通液した。通液後、酢酸緩衝液 5 mL と水 5 mL を用いて洗浄を行い、5 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メタノール 3 mL を通して溶出し、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、500 µL の 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液/アセトニトリル (70/30, 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 TQD

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: 中鎖 PFAS (C6~C9) 対象, Accura Triart C18 (2.1×150 mm, 1.9 μm, YMC 社製) 及び長鎖 PFAS (C ≥ 10) 対象, 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

中鎖 PFAS のグラジエントプログラム: A/B=70/30 (0 min) → 20/80 (20 min) → 2/98 (20.1-25 min) → 70/30 (25.1-30 min)

長鎖 PFAS の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

測定モード: SRM

(1-3-2)トータルダイエツ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

2022 年度及び 2023 年度において、関東及び関西の 2 地域で購入した食品試料を用いて調製した。厚生労働省が実施した 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、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。さらに飲料水 (水道水) 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、内部標準物質として各分子種の ¹³C 標識体を 10 ng/mL の濃度で含む混合標準溶液 0.1 mL を加えた。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、ポリトロンを用いて 1 分間ホモジナイズした後、0°C、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、振とう機を用いて 5 分間振とうした。0°C、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°C 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 mL 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。2023 年度関西の 10 群試料における PFOS の分析では、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「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」(トータルダイエツ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食品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、扱ふ場合 (Lower-bound, LB) 及び LOQ 未満の分析値を LOQ とし、扱ふ場合 (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、仮定して算出した。

(1-4) 乳幼児の一食分試料を用いたポリ塩化ビフェニル摂取量調査

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PCBs分析に供した。ただし、ミルクについては主な4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、PCBs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PCBs分析に供した。

”主食・汁物”の前処理

均一化した試料 50 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、アセトン及びヘキサンを加え、栓をして振とうした。この溶液をガラスフィルタで濾過をした。残渣にアセトン及びヘキサンを加え、再度、振とうした。この溶液を同様に濾過して、先の濾過液と合わせた。濾過液に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。有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水後、溶媒を留去した後、1 mol/L 水酸化カリウムエタノール溶液を加えスターラーで攪拌した。このアルカリ分解液を分液漏斗に移した後、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。このヘキサン溶液を分液漏斗に移し、ヘキサン飽和ジメチルスルホキシド(DMSO)を加え振とう抽出した。静置後、DMSO

層を分取し、ヘキサン層にDMSOを加え同様の操作を3回行った。DMSO抽出液を合わせ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、水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。ヘキサン層を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。

”その他”の前処理

均一化した試料 50 g をビーカーに量りとり、クリーンアップスパイクを加えた後、1 mol/L 水酸化カリウムエタノール溶液を加えスターラーで攪拌した。このアルカリ分解液を分液漏斗に移した後、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。このヘキサン溶液を分液漏斗に移し、DMSOを加え振とう抽出した。以降の多層シリカゲル及びアルミナカラムによる精製操作は”主食・汁物”の前処理と同様に実施した。

”ミルク”の前処理

均一化した試料 50 g をビーカーに量りとり、クリーンアップスパイクを加えた後、1 mol/L 水酸化カリウムエタノール溶液を加えスターラーで攪拌した。以降の抽出及び精製操作は「(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」と同様に前処理を行った。

PCBsの測定

測定条件の詳細は、「(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」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。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°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。

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。サンプルポートは、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°C で 3 時間加熱した。冷却後、総水銀計により 850°C 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°C 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。

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°C 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。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 Na₂SO₄, 0.5 mg/mL NaHCO₃, 1.5 mg/mL KCl, 2.0 mg/mL KH₂PO₄, CaCl₂·H₂O, 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% 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。

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。

元素類ばく露量は、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ばく露量(地域別ばく露量)に相当する。地域別ばく露量を平均した値を全国・全年齢層平均ばく露量(推定一日ばく露量)とした。

各種元素類のばく露量推定値やばく露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ばく露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2022-2023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たベイズ推定により、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ばく露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

試験溶液の調整

試料(50g(認証標準試料は約4g))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サカラムに注入し、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。

GC-MS/MSによるダイオキシン類の測定

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、1,2,3,4,7,8 - 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:DB-5ms UI(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:260°C

注入量:2 μL

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

注入量:2 μL

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

注入量:1 μL

昇温条件:130°C(1分保持)-15°C/分-200°C-1
°C/分-220°C-2°C/分-250°C-3°C/分-270°C-15
°C/分-310°C(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°C;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。

試験溶液の調製

均一化した試料を量り採り、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 40 mL 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 μ m、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) \rightarrow 0/99/1 (27.1-60.0 min) \rightarrow 9/90/1 (60.1-67 min))

流速: 0.2 mL/min

注入量: 5 μ L

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°C

脱溶媒温度: 500°C

コーンガス: N₂ 150 L/hr

脱溶媒ガス: N₂ 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。

(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-プロピル) (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-ジブチルプロピル) (TDBPP)の非標識(ネイティブ体) 18 種類を(株)ウエ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-d₁₅ (TEP-d₁₅)、リン酸トリブチル-d₂₇ (TBP-d₂₇)、リン酸トリス(2-クロロエチル)-d₁₂ (TCEP-d₁₂)、リン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル)-d₁₅ (TDCPP-d₁₅)、リン酸トリス(2-ブトキシエチル)-¹³C₂ (TBEP-¹³C₂)、リン酸トリフェニル-¹³C₁₈ (TPhP-¹³C₁₈)、リン酸トリプロピル-d₂₁ (TPrP-d₂₁)を(株)ウエ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) -¹³C₁₈ (T4iPPHP-¹³C₁₈)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-d₁₅ (TPhP-d₁₅)を(株)ウェリントンラボラトリージャパンより購入した。

ゲル浸透クロマトグラフィー精製条件の検討

ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)の装置構成、使用条件等は、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。

試料は、TD 試料のうち、色素、タンパク質や油脂類等を比較的多く含む7群(緑黄色野菜)、10群(魚介類)、13群(調味料類)とした。試料約10gをPP製の50mL遠心チューブに量り採り、アセトニトリル20mLを加えてホモジナイズ(10,000rpm,2分間)した。1gの塩化ナトリウムおよび4g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(4,000rpm,10min)。上澄み液を回収し、約1mLまで濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物をGPCの移動相と同じ組成の溶液10mLに溶解し、遠心分離(4,000rpm,10分間)して得られた上澄み液を抽出液とした。また、GPC精製における回収率を評価するため、ネイティブ体のOPFRs標準物質(T3iPPhP及びT4iPPhPを除く16種類)各90ngを抽出液9mLに溶解し、その内の2mLをサンプルループ方式にてGPC装置に注入した。注入後9分から2分間隔で21分まで分取して画分1~6を得た。各画分にクリーンアップスパイクを各20ng添加後、窒素気流下で溶媒を除去しメタノール1mLに溶解したものをLC-MS/MS測定溶液とした。また、標準溶液の分画についても併行して実施した。

添加回収試験

TD 試料のうち、7群(緑黄色野菜)、10群(魚介類)、13群(調味料類)とした。試料約10gをポリプロピレン製の50mL遠心チューブに量り採り、ネイティブ体のOPFRs標準物質を各200ng、クリーンアップスパイクを各50ng添加した後、アセトニトリル20mLを加えてホモジナイズ(10,000

rpm,2分間)した。1gの塩化ナトリウムおよび4gの硫酸ナトリウム(無水)を加えて塩析および脱水を行った後、遠心分離した(4,000rpm,10min)。上澄み液を回収し、約1mLまで濃縮後、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10mLに溶解し、遠心分離(4,000rpm,10分間)して得られた上澄み液を抽出液とした。抽出液2mLをサンプルループ方式にてGPC装置に注入した。注入後9~21分を分取して濃縮・乾固後、シリジスパイク10ngを添加して、メタノールで10mLに定容したものをLC-MS/MS測定溶液とした。添加回収試験は2併行(13群は1併行)で行った。また、OPFRsを添加していないブランク試料および操作ブランク試料についても併行して調製した。

APGC-MS/MS測定条件及び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

2023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した。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した。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、原則として初産婦に限定した。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、1名除外(出生後に先天性心疾患の存在が判明)の後、18名について解析を行なった。

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や集団の特徴の前年度の比較に関しては、Man-Whitney-U 検定、カイ2乗検定、t 検定を用いて行なった。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ここ数年の発表を収集した。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も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 2023 年 4 月以降 2024 年 3 月までである。

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) トータルダイエツ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 20.15(範囲 5.80~39.74) pg TEQ/person/day と推定された。体重あたりの摂取量は平均 0.40(範囲:0.12~0.79) 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 20%程度に相当した。昨年度は平均 0.42(範囲:0.13~0.96) pg TEQ/kg bw/day であり、今年度の平均値は昨年度の平均値を僅かであるが下回った。

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)90.4%、11 群(肉・卵類)8.4%であり、これら 2 つの食品群で全体の 98.8%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、67%であった。一昨年度及び昨年度における割合は共に 69%及び 64%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 1.2~3.1 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(2023 年度)の全国平均値は 0.40 pg TEQ/kg bw/day であり、1998 年度以降の調査結果の中で 2 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。

(1-2)トータルダイエツ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 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 86~396 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 256 ng/person/day であった。また、11 群からの総 PCBs 摂取量は 5.9~27 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 318 ng/person/day、11 群からの総 PCBs 摂取量の全国平均値は 12 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。今年度は 10 群については地域 D、11 群については地域 H 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 群では約 0.6 倍、11 群では約 1.2 倍であった。

10 群と 11 群からの総 PCBs 摂取量は 98~402 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 270 ng/person/day であった。昨年度の総 PCBs 摂取量の全国平均値は 330

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 270 ng/person/day であり、体重(50 kg と仮定)あたりでは 5.4 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 27%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 1/12 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 79 ~ 363 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 236 ng/person/day であった。11 群からの NDL-PCBs 摂取量は 5.3 ~ 24 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 12 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、90 ~ 369 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 248 ng/person/day (体重 50 kg で除した場合、5.0 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 270 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 27 ~ 122 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 83 ng/person/day であった。11 群からの摂取量は 2.1 ~ 10 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 5.0 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、32 ~ 124 ng/person/day の範囲で推定され、全国平均値は 88 ng/person/day (体重 50 kg で除した場合、1.8 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 9,889 ~ 647,223 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 2022 年の PCBs 摂取量は 7.7 ng/kg bw/day と報告されており、本調査の結果はやや低い値であった。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 1.8 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) トータルダイエツ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

認証標準試料の分析結果

本認証標準試料には 21 種類の PFAS (C4~C18) が含まれるため、全種をモニターの対象とした。また、内部標準物質には安定同位体標識化合物である 13 種の混合溶液を使用した。本分析法は中鎖 PFAS を主な分析対象としているため、長鎖 PFAS の内、4 種 (PFTeDA、PFHxDA、PFODA、PFDoS) に関しては分析カラムの洗浄時に溶出し、かつイオン強度が低い傾向となった。認証標準試料(魚試料)を分析した結果、中鎖 PFAS (PFHxS、PFOS 及び PFNA) の分析値は、いずれも付与値(参考値/認証値)とは大きな乖離はなく、95%信頼区間内に収まっていた。長鎖 PFAS は 5 種の内 4 種については同様の結果を得たが、PFTrDA については 95%信頼区間の下限を下回る値となった。本認証標準試料で

は一部の PFAS のみにしか参考値/認証値が付与されていないことから、食品試料を用いて添加回収試験を実施し、更なる分析法性の性能評価を実施した。

添加回収試験の結果

食品試料としてキャベツ及び牛肉を用いて添加回収試験を実施した。PFAS の添加濃度は 1 及び 10 ng/g とした。内部標準法により各分析対象物質の回収率を求めた。短鎖及び中鎖 PFAS (C \leq 9) の回収率は 70~120%であった。また、いずれも相対標準偏差(RSD) 15%以内のばらつきに収まった。一方で、長鎖 PFAS (C \geq 10) については、9 種の内、3 種で良好な回収率が認められたが、安定同位体標識された内部標準物質が、分析対象物質と対応していない PFAS では回収率が低く、さらに検量線の回帰直線の決定係数が 0.99 を下回るものが多く存在した。長鎖 PFAS は短鎖及び中鎖 PFAS と比較してイオン強度が低いものが多く、これに伴って検量線用標準溶液の測定が正常に行えていない可能性が示唆された。また、短鎖 PFAS は、回収率は良好であったが、LC の保持が弱いものがいくつか存在しており、他の食品に適用した場合の夾雑成分による影響が懸念された。

次に、本年度は中鎖 PFAS の分析性能に重点を置き、4 種の食品(キャベツ、牛肉、鯛、及び鶏卵)を用いて追加の添加回収試験($n=3$)を実施した。PFAS の添加濃度は 0.1 及び 1 ng/g とした。内部標準法により各分析対象物質の回収率を求めた。中鎖 PFAS の全 8 種において、4 種全ての食品で回収率 70~120%と良好な結果が得られた。また、いずれも RSD 15%以内のばらつきに収まった。なお、鶏卵試料の分析においては、昨年度報告した通り、PFOS の MRM クロマトグラム上にタウロコール酸のピークが認められたが、本化合物の溶出時間から 5 分以上離れた状態で PFOS の定量が可能であった。その他の PFAS に関しては、いずれも MRM クロマトグラム上に明確な夾雑ピークは認められなかった。以上から、本法は中鎖 PFAS 8 種を精確に分析できるものと

判断した。

長鎖 PFAS の測定条件の検討

同一の LC-MS/MS 測定条件では、長鎖 PFAS は保持が強すぎるため、分析が困難な可能性が示唆された。そこで、より適切な長鎖 PFAS の測定条件の設定を目的として、分析カラムや溶出条件を検討した。オクタデシルシリル基修飾型の C18 カラムでは洗浄工程前での溶出が難しいと考えられたため、オクチルシリル基修飾型の逆相 C8 カラムの適用を考えた。本測定条件において、検量線用標準溶液を測定し、回帰直線を作成した。全ての長鎖 PFAS をグラジエントプログラムのカラム洗浄工程前に溶出することができた。また、9 種の内、8 種において決定係数が 0.99 を上回る良好な直線性(絶対検量線)を得たが、最長鎖の PFODA(C18)に関しては、回帰値との偏差が大きかった。従って、内部標準物質による補正は必須のものと考えられた。今回使用した内部標準物質では、長鎖 PFAS 9 種の内、対応する内部標準物質は 4 種に限られており、根本的な問題の解決には、追加の内部標準物質の使用が必要と考えられる。一方で、これらの内標準物質は市販されていないため、今後はこれらの内標準物質の供給を課題として、アプローチしていく必要がある。最後に牛肉試料を用い、中鎖 PFAS の前処理工程を適用し、上記で設定した長鎖 PFAS の測定条件にて添加回収試験を行った。内標準法により求めた回収率は、PFDA、PFDoA 及び PFTeDA については、いずれも回収率は 93 ~ 112% と良好であった。一方で、PFTrDA、PFHxDA、PFODA、PFDS 及び PFDoS に関しては、多くのもので回収率が低かった(<70%)。これら 5 種については対応する内部標準物質がない PFAS であり、代替とした内部標準物質での補正では限界がある可能性が示唆された。特に PFODA については回収率が著しく悪く、前処理工程も含めた抜本的な再検討が必要と考えられた。

(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

分析法の妥当性評価

・定量下限値の推定

本分析法における各分子種の LOQ は、TD 試料中の濃度として、PFOS 及び PFHxS については 0.005 ng/g、PFOA については 0.010 ng/g、PFNA については 0.015 ng/g と推定された。なお、PFOA 及び PFNA については、操作ブランクにおいて S/N ≥ 3 のピークが認められたことから、操作ブランクが不検出となった PFOS 及び PFHxS と比べ高い LOQ となった。

・添加回収試験

各群の TD 試料における PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の添加回収試験を実施した。得られたデータについて、EU の「Guidance Document on Analytical Parameters for the Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Food and Feed」及びアメリカ食品医薬品局 (FDA) の「Guidelines for the Validation of Chemical Methods in Food, Feed, Cosmetics, and Veterinary Products」に従い、検量線の直線性、真度、併行精度、IS の回収率及びイオン比を評価した。なお、イオン比は、試料における定量イオンの面積値に対する定性イオンの面積値の比について、理論値(各濃度の検量線作成用標準溶液における定量イオンの面積値に対する定性イオンの面積値の比の平均値)に対する割合として示した。PFOS の定量イオンにおいては、8 群で LOQ を大きく上回る夾雑物由来の高いベースラインが認められた。また、PFHxS の定量イオンにおいては、10 群において LOQ と同程度の強度を示す高いベースラインが認められた。これらのことから、8 群の PFOS 及び 10 群の PFHxS については、定性イオンを用いて定量を行った。

得られた検量線において、各検量液の面積比を回帰式により逆算して求めた濃度の理論値からの偏差は 93 ~ 108% と目標値を満たす値を示し、良好な直線性が認められた。いずれの分子種及び食品群についても、真度は 83 ~ 110%、併

行精度は7%以内、IS回収率は54~116%を示し、目標値を満たした。各分子種のイオン比は、概ね全ての群でガイドラインの目標値を満たす値を示した。前述の通り、8群におけるPFOSの定量イオンには夾雑物由来の高いベースラインが認められ、PFOSのピークが検出できなかったことから、イオン比を算出できなかった。したがって、8群におけるPFOSについては、その分析値を参考値として扱う必要があると考えられた。

・魚標準物質の分析

魚標準物質を分析した結果、PFOS、PFOA、PFHxS及びPFNAのいずれについても、分析値は拡張不確かさ(包含係数 $k = 2$)の範囲内に収まった。添加回収試験の結果及び標準試料の分析結果から、ごく一部の分析値は参考値扱いとなるものの、本分析法によりTD試料中の各PFAS分子種を精確に分析することが可能と考えられた。

PFAS摂取量の推定

2022年度及び2023年度に調製した2地域のTD試料を分析し、各群試料におけるPFOS、PFOA、PFHxS及びPFNAの含有量を求めた。添加回収試験と同様に、8群におけるPFOS及び10群におけるPFHxSについては、定性イオンを用いて定量を行った。なお、本研究では検出下限値の推定は行わなかったことから、実際にはピークが認められなかった試料についてもLOQ未満として示した。IS回収率はいずれの分子種及び食品群においても38~113%を示し、目標値を満たした。また、LOQ以上の分析値を示した試料において、各分子種のイオン比は概ね目標値を満たした。ただし、10群のPFHxSについては、一部の試料においてイオン比の目標値を満たさなかったほか、8群のPFHxSについては定性イオンが検出されずイオン比を算出不能であったことから、これらの分析値は参考値として示した。

次いで、TD試料の分析結果より、PFOS、PFOA、PFHxS及びPFNAの摂取量を推定した。各分子種の摂取量(LB~UB)は、PFOSは20~

163 ng/day、PFOAは2.4~66 ng/day、PFHxSは1.3~19 ng/day、PFNAは4.8~71 ng/dayの範囲と推定された。また、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は0.40~3.3 ng/kg bw/day、PFOAは0.049~1.3 ng/kg bw/day、PFHxSは0.025~0.38 ng/kg bw/day、PFNAは0.097~1.4 ng/kg bw/dayの範囲と推定された。本研究において推定されたPFOS及びPFOAの摂取量は、食品健康影響の指標値として示されたTDI(20 ng/kg bw/day)の2.0~16%及び0.24~6.6%に相当し、TDIを下回っていた。今年度は関東及び関西の2地域のトータルダイエツト試料により摂取量を推定したが、今後は他の地域の試料についても分析を行い、推定摂取量の全国平均値を算出する予定である。

PFOS、PFOA、PFHxS及びPFNA総摂取量に対する各食品群の寄与率を計算した。LBを用いた場合の10群の寄与率はPFOSで86~99%、PFOAで72~100%、PFNAで100%を示し、これらの分子種については10群が主な摂取源であることが示された。また、8群のPFHxSには定性イオンが検出されず、当該分析値は参考値であることをふまえると、PFHxSについても10群が主な摂取源であることが示唆されたが、PFHxSの摂取源については、より高感度なLC-MS/MSの使用や精製の追加等による分析法の改良を行い、より精確な分析値をもって考察する必要があると考えられた。

国内外のPFAS摂取量調査との比較

日本国内における先行調査としては、農林水産省が平成24~26年度(2012~2014年度)に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ツトスタディが挙げられる。この調査においては、体重あたりの平均摂取量はPFOSにおいて0.60~1.1 ng/kg bw/day(LB~UB)、PFOAにおいて0.066~0.75 ng/kg bw/day(LB~UB)と推定されており、本研究の2022年度関東・関西及び2023年度関東の試料から推定された摂取量は、いずれも農林水産省が示したUB未満の値

を示した。一方、本研究の 2023 年度関西の試料から推定された PFOS 及び PFOA の摂取量は、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、前述の通り、当該試料には PFAS を高濃度に含有する食品が偶発的に含まれたことが示唆された。また、農林水産省の調査において、LB を用いた場合の魚介類の寄与率は PFOS では 97.3%、PFOA では 89.7%と高値を示し、本研究で認められた傾向とよく一致した。

本研究から推定された摂取量を諸外国で実施された調査結果と比較する際は、調査によって対象分子種や摂取量推定手法が異なることに留意する必要がある。既に報告されている値のうち、本研究と比較可能と考えられるのは、EU 及びオーストラリアで行われた調査である。EU の調査では、各分子種の推定摂取量が対象集団ごとに詳細に報告されており、例えば成人(18 歳以上 65 歳未満)の平均摂取量群における PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の総摂取量は、LB において 0.55~1.34 ng/kg bw/day、UB において 13.54~21.97 ng/kg bw/day と推定されている。また、UB を用いて推定された 4 分子種の総摂取量の最小値は、高齢者(65 歳以上 75 歳未満)における 11.51 ng/kg bw/day と報告されている。オーストラリアの調査では、2 歳以上における PFOS の平均摂取量は 0.011~1.7 ng/kg bw/day (LB~UB)と推定されている。これらの報告と本研究の推定結果を比較すると、本研究において推定された 4 分子種の総摂取量は(0.62~6.4 ng/kg bw/day, LB~UB)は、EU における UB の最小値より低値であった。また、本研究の 2022 年度関東・関西及び 2023 年度関東の試料から推定された PFOS 及び PFOA 摂取量は、オーストラリアの調査で推定された摂取量の範囲内であった。これらのことから、現時点では我が国における PFAS の摂取量について、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ポリ塩化ビフェニル摂取量調査

一食分試料からの総 PCBs 摂取量

乳児及び幼児の一食分試料(昼食、各 32 試料)からの総 PCBs 摂取量のヒストグラムを作成すると、総 PCBs 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総 PCBs 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、並びにミルクを含むために、一食分試料からの PCBs 摂取量が全体的に低くなったものと考えられた。また、一食あたりの総 PCBs 摂取量が 100 ng/食を超えた試料が乳児では 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。一食分試料における各食品区分の総 PCBs 摂取量に占める割合をみると、総 PCBs 摂取量が 100 ng/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”からの総 PCBs 摂取量が多く、全体に占める割合が極めて高くなっていた(97%以上)。特に幼児では脂肪含量が比較的高い魚(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総 PCBs 摂取量が高くなったと考えられた。

一食分試料からの PCBs 摂取量の統計量を計算した。乳児の一食分試料からの総 PCBs 摂取量は、平均値が 17 ng/食、中央値が 6.5 ng/食、範囲が 4.1~226 ng/食であった。幼児の一食分試料からの総 PCBs 摂取量は、平均値が 99 ng/食、中央値が 14 ng/食、範囲が 6.9~1,422 ng/食であった。幼児の総 PCBs 摂取量の平均値は乳児と比較すると 6 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。一食あたりの総 PCBs 摂取量の平均値は、乳児で 2.0 ng/kg bw/食、幼児で 9.8 ng/kg bw/食となり、日本の暫定一日摂取許容量(5 µg/kg bw/day)に占める割合は 0.2%以下であった。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、今回の一食分試料を一日

3 回喫食したと仮定した場合の総 PCBs 摂取量 (平均値) についても日本の暫定一日摂取許容量に占める割合は十分に低くなる。また、参考としてより保守的な値ではあるが、WHO の TDI (0.02 µg/kg bw/day) と比較すると、総 PCBs 摂取量の乳児の平均値は約 10%、幼児の平均値は約 50% に相当した。幼児では昼食一食だけで WHO TDI の約半分を占めた。WHO TDI については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が、PCBs 摂取量をより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。

一食分試料からの NDL-PCBs 摂取量

リスク評価のための情報が不足している NDL-PCBs、並びに NDL-PCBs の指標異性体とされる 6PCBs の摂取量についても推定した。乳児の一食分試料からの NDL-PCBs 摂取量は、平均値が 16 ng/食、中央値が 6.1 ng/食、範囲が 3.9~206 ng/食であった。幼児の一食分試料からの NDL-PCBs 摂取量は、平均値が 92 ng/食、中央値が 14 ng/食、範囲が 6.7~1,314 ng/食であった。また、乳児の一食分試料からの 6PCBs 摂取量は、平均値が 4.8 ng/食、中央値が 1.1 ng/食、範囲が 0.58~79 ng/食であった。幼児の一食分試料からの 6PCBs 摂取量は、平均値が 30 ng/食、中央値が 2.9 ng/食、範囲が 0.95~466 ng/食であった。現在、NDL-PCBs について 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、各異性体の摂取量の平均値で除した。各異性体の MOE は乳児で 35,727~2,000,875、幼児で 5,594~416,273 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ことから、MOE は十分に大きか

った。また、上述したように今回は昼食のみを調査対象としていることに留意が必要であるが、今回の一食分試料を一日 3 回喫食したと仮定しても、各異性体の MOE は 1,800 以上となり、100 を下回ることはなかった。

(2) 食品の有害元素の摂取量推定に関する研究

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、各元素類のばく露量を推定した。一斉分析法の対象となる 41 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, Pb, U) について 10 地域の平均値として推定一日ばく露量を算出した。また、ヒ素の化学種別の推定一日ばく露量の平均値、地域ブロックごとの 1 群、10 群、および 11 群からの MeHg ばく露量を算出した。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 のばく露量における寄与率は、これまでの報告と同様に、10 群で 51.6%、次いで 8 群で 38.4% 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 72.1%、8 群の寄与率は 11.0% であった。Cd のばく露量における寄与率は、これまでの報告と同様に、1 群で 27.8%、次いで 8 群の 19.8% と大きかった。Hg のばく露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 91.7% であった。10 群では 79.6% が毒性の高いメチル水銀として存在していた。Pb のばく露量における寄与率は、8 群で最も高く 23.8%、次いで 9 群で 18.5% であった。

Health-Based Guideline Value との比較

各元素の Health-Based Guideline Value (HBGV) を種々の公的機関のデータベースから参照し、推定した一日ばく露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、最大で 1.07 - 1.50 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 9.3 となった。不確実係数としては、個人差として 10、ばく露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) をもちいて、日本人の推定発がんリスクを求めたところ 4.8×10^{-4} であった。一般的に許容される発がんリスクの 10^{-5} と比較すると 48 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によると、2021 年における皮膚がんの罹患率は 20.0/10 万と報告されている。皮膚がんの原因には様々な要因が考えられているが、最も大きい要因は紫外線による影響とされている。これらの点を踏まえると、推定された iAs ばく露による発がんリスクは、過大な見積もりとなっている可能性がある。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ばく露を明らかにした上でばく露量を評価する必要があるとしている。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 ばく露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 - 1.02 であった。Ni の推定一日ばく露量における各食品群からの寄与率は、5 群 (28.0%) で最も高く、次いで 1 群 (13.7%) で高かった。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 Cd であり、その値は 0.29 - 0.81 であった。EFSA が 2011 年に導出した TWI は、食品安全委員会が 2008 年に導出した TWI や WHO/JECFA が 2013 年

に導出した PTMI よりも保守的な値となっており、このような HQ が広い結果となった。

毒性の高い元素である MeHg の HQ は 0.27 - 0.41 の範囲であり、今後とも食品を介したばく露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、本研究で推定したばく露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 歳のばく露量を推定して算出した。その結果、MOE は 2.5 - 19.2 の範囲内であった。EFSA の評価書では、鉛ばく露の 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、平均的なばく露量としての健康リスクは小さいと考えられた。

経年変動

As の推定一日ばく露量は、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。ばく露量だけでなく、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、ほぼ一定のばく露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、ばく露量は減少してきており、2013 年以降はばく露量のバラツキが小さくなってきた。1977 年のばく露量と比較すると半分以下まで減少していた。

Hg の推定一日ばく露量は 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 の推定一日ばく露量は 1977 年の調査以降継続して減少傾向にある。2023 年の推定一日ばく露量はこれまでの調査における最小値を更新し、1977 年の 5%以下まで減少していた。

簡易分析法を用いた精米中無機ヒ素濃度の実態調査

iAs の簡易分析法として、Huang et al. (2015, DOI: 10.1039/c5ay01434d) の報告を参考に昨年度開発した簡易分析法を用いて精米中の無機ヒ素濃度の実態評価を行った。簡易分析法を用いて推定された iAs/総ヒ素の割合は $66.3 \pm 8.8\%$ であり、既報の値と一致していたことから、妥当な分析結果であると考えられた。

精白米試料を分析したところ、東海、四国、近畿 I 地域ブロックで iAs 濃度が高い傾向にあった。一方で、生産量の多い、北海道、東北、北陸地方ブロック産の精白米中 iAs 濃度は平均的な濃度であった。最大濃度であった東海地方ブロック産の精白米中 iAs 濃度は、最小濃度であった南九州地方ブロックの 2.2 倍であった。調査を行っている有害元素の中で、iAs のリスクは最も高いことを踏まえると、地域ブロック毎にばく露評価を行う必要性があると考えられた。

幼児を対象とした鉛の確率論的ばく露評価

健康リスクの高い幼児を対象として確率論的なばく露量推定を行った。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。

一日推定ばく露量の平均値は $0.188 \pm 0.028 \mu\text{g}/\text{kg-bw}/\text{day}$ と推定された。ND に 0 あるいは LOQ 代入し、摂取カロリーで補正した推定ばく露量は、 0.173 及び $0.222 \mu\text{g}/\text{kg-bw}/\text{day}$ 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 ばく露量の 5、25、50、75、及び 95 パーセンタイル値は、それぞれ 0.076 、 0.118 、 0.160 、 0.220 、 $0.374 \mu\text{g}/\text{kg-bw}/\text{day}$ であった。

2D-MCS の結果、MOE の平均値は $3.43 \pm$

0.32 と推定された。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、 2.9 及び 2.3 であり、2D-MCS による推定結果の方が大きな値となった。また、2D-MCS を用いて推定した MOE の 5、25、50、75 及び 95 パーセンタイル値は、それぞれ 1.34 、 2.28 、 3.13 、 4.24 、 6.56 であった。また、MOE が安全係数積である 1 を下回る確率は $1.9 \pm 2.2\%$ と推定された。

喫食量算出法の違いがばく露量推定に与える影響

全国民の平均的なばく露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ばく露量を精緻に推定するには、年齢構成や地域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-bw) 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せず全地域としての値を求めた。

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した体重当たり喫食量 $r_{\text{all}}^{\text{W1}}$ を次のように算出した。

$$r_{\text{all}}^{\text{W1}} = \sum_{i=1}^k \omega_i r_i,$$

ここで、 ω_i は年齢層 i の重み付け係数を、 r_i は年齢層 i の体重当たり喫食量 (g/kg-bw) を示す。年齢層は 1 - 6、7 - 19、20 - 59、60 - 79、 ≥ 80 歳とした。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た次の値を用いた： $\omega_1=0.0473$ 、 $\omega_2=0.1149$ 、 $\omega_3=0.4952$ 、 $\omega_4=0.2554$ 、 $\omega_5=0.0872$ 。

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 $r_{\text{all}}^{\text{w}2}$ を次のように算出した。

$$r_{\text{all}}^{\text{w}2} = \frac{1}{D} \sum_{i=1}^k d_i r_i,$$

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_i は年齢層 i 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。

標本平均である重み付けなしの値と比較すると、重み付け法 1 では体重当たり喫食量が 0.81 - 0.95 倍と小さく見積もられるのに対して、重み付け法 2 では体重当たり喫食量が 0.94 - 1.16 倍に見積もられた。重み付け法 1 と 2 では、ばく露評価の目的が異なるため、本研究班におけるばく露評価の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 を用いた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

TEF を有する 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、液相の種類が異なる 2 種類の GC カラム (DB-5ms UI 及び RH-12ms) を用いている。DB-5ms UI による PCDD/PCDFs 測定を行う際に、昨年度の昇温条件では、TEF を有する PCDD/PCDFs とその他の PCDD/PCDFs との分離が悪く、正確に定量で

きない可能性が考えられた。そこで、分離の改善を目指して DB-5ms UI の昇温条件を検討した。136 種の PCDD/PCDFs を含む標準溶液を使用して検討を行った結果、今年度に検討した昇温条件では分離の改善が認められたことから、昇温条件を変更した。

また、食品試料ではマトリックスが多く含まれるためイオン源が汚れ、感度低下を招くことが懸念された。イオン源の汚れによる感度の低下を緩和することを期待して、昨年度の測定条件からエミッション電流及びイオン源温度等を変更した。昨年度はエミッション電流を 50 μA としたが、20 μA でも感度の大幅な低下が認められなかったことから、本年度はエミッション電流を 20 μA に変更した。さらに、イオン源温度をより高温とするため、300°C から 320°C に変更した。

上記の GC-MS/MS 測定条件の変更に伴い、PCDD/PCDFs の S/N が若干悪くなった。検量線用 PCDD/PCDFs 標準溶液の最低濃度を 0.01 ng/mL とすると、やや感度が不足してピーク形状が悪化する可能性があったことから、最低濃度を 0.02 ng/mL に変更した。

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 0.001~0.013 pg/g、LOQs は 0.003~0.043 pg/g であった。Co-PCBs の LODs は 0.002~0.11 pg/g、LOQs は 0.006~0.4 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

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

ブリ、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、ブリで 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、RSD もブリで 16.1%以内、牛肉で 8.4%以内、鶏卵で 8.2%以内であり、高分解能 GC/MS (ブリで 20.6%以内、牛肉で 18.4%以内、鶏卵で 9.7%以内)と比較して顕著に大きな値となることはなかった。

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。GC-MS/MS 分析を 2 試行で実施した結果、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 \pm 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 \pm 2SD の範囲内であった。

性能評価時における GC-MS/MS 分析の問題点

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。特に DB-5ms UI カラムでは食品試料を測定後に、PCDD/PCDFs のイオン強度が半分以下に低下する現象が生じた。イオン源の洗浄を行うとイオン強度が回復することから、恐らくマトリックスによるイオン源の汚れのためイオン強度が低下したものと考えられた。今回、予めイオン

源の汚れを緩和することを期待して、エミッション電流とイオン源温度を変更したものの、イオン強度の低下を防ぐことができなかった。今後はイオン源の汚れによるイオン強度の大幅な低下を回避するために、より S/N の良い GC カラムを使用して試験溶液の注入量を可能な限り少なくしたり、場合によっては追加の精製方法を検討したりする等の必要があると考えられる。

(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

標準溶液及びマグロ試料を用いて、13 種の BT を分析対象として抽出溶媒、有機溶媒への転溶及びカラム精製について最適化条件を検討した。BT を試料からメタノールで抽出し、塩化ナトリウム溶液及びヘキサンを加えて、有機層に転溶した後、5%含水シリカゲルカラム及びフロリジルミニカラムで精製した。検討した前処理法により、魚試料 4 食品(マグロ、タラ、アジ及びサバ)に定量限界値濃度(0.4 ng/g)の BT を添加して、5 併行の添加回収試験を実施した。

選択性

ブランク試料において UV-P、UV-326、UV328、UV-329 及び UV360 については、同一保持時間に定量限界値濃度に相当するピーク強度の 1/10 以上のピークが検出された。これらは定性イオン/定量イオンの強度比が標準物質とほぼ一致したことから(80%~120%)、当該 BT がブランク試料に含まれていたものであり、妨害ピークではないと判断した。その他の 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、今回の定量限界値濃度における定量への影響は少なく、選択性に問題はないと考えた。

真度、併行精度及び LOQ

UV-P、UV-326 及び UV-329 はブランク試料において添加量 0.4 ng/g の半値以上の定量値を示した。これらは、添加試料の定量値からブランク試料の定量値を差し引いて真度を評価する

ことが困難であった。この点に関しては、今後、UV-P、UV-326 及び UV-329 の含有が問題とならないブランク試料を入手して、添加回収試験を実施する予定である。また、UV-360 については、ブランク試料の定量値は添加量 0.4 ng/g を下回っていたものの、良好な真度及び併行精度が得られず、今後の検討課題である。

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 4 種類の魚試料における真度 ($n = 5$) は、76.8%~114.0%、併行精度は 0.7%~12.0% の良好な結果が得られた。分析対象と同じ安定同位体標識化合物により補正を行った BT については、比較的良好な真度を示した (UV-PS: 105.5%~114.0%、UV-234: 96.9%~110.9%、UV-320: 94.7%~101.6%、UV-327: 90.5%~101.5%、UV-328: 94.9%~100.7%、UV-350: 95.3%~104.3%、UV-928: 87.4%~97.3%)。一方、分析対象と異なる安定同位体標識化合物により補正を行った UV-9 及び UV-090 の真度は、それぞれ 82.8%~100.9% 及び 76.8%~89.7% であり、真度がやや低下した。入手可能ならば分析対象と同じ安定同位体標識化合物を用いて補正した方が良いと考えられた。また、安定同位体標識化合物の回収率は、71.5%~85.9% であった。

9 種の BT については、LOQ 濃度の添加回収試験において良好な結果が得られ、かつ、何れの試料においてもピークの S/N は 10 以上であった。したがって、本法における定量限界値は 9 種の BT について、0.4 ng/g と設定が可能であった。

(3-3) 食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

APGC-MS/MS 測定条件の検討

APGC は、LC-MS のイオン化法である大気圧化学イオン化法を応用したものであり、GC/MS の EI 法と比べてフラグメンテーションが少ないことから高感度な測定が期待できる。さらに、キャリアガスに窒素を用いても感度低下を引き起こさな

いとされている。そこで、キャリアガスとして窒素を用いた条件を検討した。スキャンモードにて各 OPFRs 標準溶液を測定し、MS スペクトルの情報を基に適切なプリカーサーイオン ($[M]^+$ または $[M+H]^+$) を選択した。ドライ雰囲気下においても、 $[M+H]^+$ が $[M]^+$ より高い感度で観測された化合物があったため、OPFRs の中にはウェット雰囲気下による測定が適している化合物もあると考えられた。

各 OPFRs について、イオン生成に最適なコーン電圧を 5~60V の範囲で検討した。また、プロダクトイオンの生成に最適なコリジョンエネルギーを 5~60 eV の範囲で検討した。各プレカーサーイオンに対するプロダクトイオンスキャンを行い、最適な SRM トランジション及びコリジョンエネルギーを設定した。TPhP、T3iPPhP、T4iPPhP は 0.01~50 ng/mL の範囲で、T35DMPPhP は 0.02~50 ng/mL の範囲で ToTP、TmTP、TpTP、EHDPPhP 及び T2iPPhP は 0.1~50 ng/mL の範囲で、TEP、TCPP、TPrP、TDCPP、TBP は 0.5~50 ng/mL の範囲で、TCEP 及び TEHP は 1~50 ng/mL の範囲で直線性が確認できた。なお、これらの検量線の最低濃度のピーク強度は全て $S/N \geq 10$ であった。一方で、TBEP および TDBPP については感度が不足しており、検討した範囲では検量線を作成できなかった。現状では、殆どの OPFRs について、昨年度に検討した LC-MS/MS 法が測定感度に優れていた。従って、以降の検討では、LC-MS/MS 法により定量を行うこととした。

GPC 精製条件の検討

GPC 精製における、OPFRs の画分ごとの回収率を検討した。最も溶出が早かったのは TEHP (9~13 分)、最も溶出が遅かったのは TCEP および TPhP (17~21 分) であった。OPFRs を一斉に分析するためには、注入後 9~21 分の分取が適切であると考えられた。OPFRs の総回収率は標準溶液: 91.1~125.5%、7 群: 62.6~115.4%、10 群: 75.8~113.6%、13 群: 73.8~134.1% であり、概ね良好な回収率であった。脂質や色素の除去の

指標となるフルバリネートは画分 2 に溶出されるため、画分 1 には、除去できなかつた脂質や色素が含まれると予測される。このことから、測定時の試料マトリックスの影響について確認する必要がある。

添加回収試験結果

回収率は絶対検量線法により算出した。定量に用いた検量線の決定係数は 0.998~1.000 の範囲であり、良好な直線性が得られた。OPFRs の回収率は 7 群:77.5~110.9%、10 群:40.4~94.4%、13 群:51.6~90.3%であり、10 群の一部の OPFRs を除いて 50%以上の回収率が得られた。10 群においては TCEP、TDCPP、TDBPP および TEHP の回収率が 50%未満であった。また、クリーンアップスパイクの回収率は、7 群:62.3~91.5%、10 群:43.0~112.0%、13 群:43~90.1%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」を適用した場合、目標値(40~120%)を満足した。

試料マトリックスの測定値への影響

溶媒標準溶液のピーク面積に対するマトリックス標準溶液のピーク面積の割合を算出し、試料マトリックスの測定値への影響を検討した。各 OPFRs に対する試料マトリックスの測定値への影響(ピーク面積比)は、7 群:0.81~1.07、10 群:0.36~0.87、13 群:0.58~1.06 であった。7 群では全ての OPFRs、13 群でも殆どの OPFRs のピーク面積比が 0.8~1.2 の範囲に収まり、測定時の試料マトリックスの影響は殆どないと考えられた。一方、10 群においてはピーク面積比が 0.8 未満の OPFRs が多く、測定時に試料マトリックスの影響(イオン化抑制)をうけていることが分かった。添加回収試験における回収率を求めたピーク面積比で除して補正した回収率は、7 群:88.9~112.9%、10 群:89.1~116.0%、13 群:79.8~95.3%であり、良好な回収率となった。このことから、一部の OPFRs において低回収率となった原因は、抽出および精製時の損失ではなく、測定時に試料マトリックスの影響を受けていたと考えられ、食品群によっては更なる精製を考慮する必

要がある。

(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 5.954±2.048 pg TEQ/g fat(中央値 6.085、範囲 3.129~12.427)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

1 歳時の質問紙票の回答は 20 名中 16 名から回答を得られた。ここ数年サンプル数が少ない年が続いているため、2019 年度と 2020 年度を合わせた集団(n=16)と 2021 年度と 2022 年度を合わせた集団(n=25)で、発達評価結果の比較を行ったが統計学的に有意な変化は見られなかった。そもそものサンプル数が限られているため、引き続き注視していく必要がある。発達評価結果の推移や、母乳中のダイオキシン類による影響のうち、濃度と児の身体発育や発達との関連に関しては、今後症例数を蓄積して 2021 年度報告と同様に統計学的評価を行なっていきたいが、現状では 2021 年度の時点の評価を変える必要はないものと判断している。

(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については2022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。新たに評価されたのは非がん影響については鉛、各種PCB、ミネラルオイル飽和炭化水素(MOSH)、ポリ臭化ジフェニルエーテル(PBDE)類で、遺伝毒性(安全な量が設定できない)影響についてはニトロソアミン類(代表としてN-ニトロソジメチルアミンNDNAと10種類の発がん性ニトロソアミン類の合計)、ミネラルオイル芳香族炭化水素(MOAH)、無機ヒ素である。ここ数年EFSAの評価が更新されるたびにHBGVがより小さくなり、「安全上の懸念となる」と結論されるものが増加していたが、2023年度は食品中のニトロソアミン、多環芳香族炭化水素、無機ヒ素が懸念すべき汚染物質としてさらに小さいMOEと評価された。特に注目すべきは無機ヒ素で、2009年にEFSAは無機ヒ素の指標としてBMDL01を0.3から8 $\mu\text{g}/\text{kg bw per day}$ の間としていたものを、疫学研究を根拠にBMDL05 0.06 $\mu\text{g iAs}/\text{kg bw per day}$ と大幅に引き下げた。その結果これまでもリスク管理の優先順位は高かった無機ヒ素のリスクがさらに大きなものと見なされた。無機ヒ素の評価を伝えるEFSAのウェブページでは、ごはんの写真を掲載し、コメは要注意であると伝えているようである。EFSAは今後さらに有機ヒ素の評価を行う予定だと発表しているため、無機ヒ素のリスクに有機ヒ素のリスクを上乗せした状態でコメのリスクについて何かを発表すると予想される。昨年度の報告でも無機ヒ素のリスク評価に注目すべき旨記載したが、今後さらに重要となるだろう。

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日本の食品安全委員会と環境省の動きがあったことで、食品安全委員会の食品健康影響調査が意見募集を経て最終化された後に基準値設定などの対応が予想される。海外では英国COTがEFSAのPFAS評価には合意しないことを公式に発表したことと、IARCモノグラフがPFOSをヒトに対して発がん性がある可能性がある(グループ2B)に新たに分類し、PFOAをヒトに対して発がん性がある(グループ

1)に分類を更新したことがあげられる。IARCモノグラフによる発がんハザード分類はここしばらく多くのリスク評価機関によるリスク評価と整合性がないうことからあまり重視されなくなっている。今回のPFOAとPFOSのグループ分類の根拠はこれまでの発がん性の考え方をさらに大きく逸脱したもので、リスク評価の参考にはできない。

PFASの利用は食品分野のみならず広く産業分野全体にわたるため、PFASの法的定義や規制方針については世界中で議論が継続している。今後も注視していく必要があるだろう。

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0.40 $\text{pg TEQ}/\text{kg bw}/\text{day}$ 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270 $\text{ng}/\text{person}/\text{day}$ と推定された。体重あたりでは5.4 $\text{ng}/\text{kg bw}/\text{day}$ 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27%となった。NDL-PCBsの一日摂取量の全国平均値は248 $\text{ng}/\text{person}/\text{day}$ 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 88 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 9,889 ~ 647,223 と十分に大きかった。

(1-3-1) 食品中の PFAS 分析法の予備的な性能評価を実施した。認証標準試料を本法により分析した結果、付与値が示されている PFAS の内、長鎖 PFAS の 1 種を除き正確な定量が可能と考えられた。また、添加回収試験より、本法は少なくとも中鎖 PFAS ($6 \leq C \leq 9$) については精確に分析できると考えられたが、長鎖 PFAS ($C \geq 10$) については低回収率あるいは検量線の直線性に問題がある可能性が示唆された。次に長鎖 PFAS の測定条件の検討を行った。C8 カラムの適用により、長鎖 PFAS のより適切な LC 保持が可能となったものの、上記の問題が解決できない長鎖 PFAS が認められた。

(1-3-2) 2022 及び 2023 年度に調製した 2 地域の TD 試料を分析し、PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の摂取量 (LB~UB) を推定した結果、PFOS は 0.40~3.3 ng/kg bw/day、PFOA は 0.049~1.3 ng/kg bw/day、PFHxS は 0.025~0.38 ng/kg bw/day、PFNA は 0.097~1.4 ng/kg bw/day の範囲で推定された。推定された PFOS 及び PFOA の摂取量は TDI の 2.0~16% 及び 0.24~6.6% 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 PCBs 分析結果に基づき、乳幼児の昼食からの PCBs 摂取量を推定した。一食分試料からの総 PCBs 摂取量の平均値は乳児で 17 ng/食、幼児で 99 ng/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 6 倍程度高かった。一食分試料からの総 PCBs 摂取量 (平均値) の日本の暫定一日摂取許容量に占める割合は 0.2% 以下と僅かであった。参考としてより保守的な WHO TDI と比較した場合は、乳児の平均値は約 10%、幼児の平均値は約 50% に相当した。NDL-PCBs の摂取量の平均値は、乳児で 16 ng/食、幼児で 92 ng/食であった。代表的

な NDL-PCBs 異性体の毒性データを用いて MOE を計算した結果、一食分試料からの各異性体の摂取量 (平均値) に対する MOE は、乳児で 35,727~2,000,875、幼児で 5,594~416,273 と十分に大きかった。

(2) 全国 10 地域で TD 試料を調製し、食品を介した元素類のばく露量評価を行った。HBGV と比較したところ、HQ は iAs (1.07-1.50)、Ni (0.14-1.02)、Cd (0.29-0.81)、Mo (0.67)、Mn (0.51)、Me-Hg (0.27-0.41)、Ba (0.04-0.39)、Al (0.17-0.36)、B (0.12-0.25) の順で高い値を示した。一方で、Pb の MOE (2.5-19.2) 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。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ばく露量推定を行ったところ、MOE の平均値は 3.43 ± 0.32 と推定された。iAs の簡易分析法を用いて精白米試料を分析したところ、地域ブロック間で 2.2 倍の濃度差が認められたことから、地域ブロック毎にばく露評価を行う必要があると考えられた。喫食量の算出方法の違いによって、現行の方法とは喫食量に 0.81 - 1.16 倍の違いが生じた。重み付け法 1 と 2 では、ばく露評価の目的が異なるため、本研究班におけるばく露評価の目的について整理する必要があると考えられた。

(3-1) 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。推定した LOQs (50 g 試料を使用時) は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。ブリ、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、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 $\pm 2SD$ の範囲内であった。GC-MS/MS による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ることがあった。今後は

この問題を解決するための検討を行う予定である。

(3-2) 魚試料中の BT 分析法として、BT を試料からメタノールで抽出し、ヘキサンと 2 w/v%塩化ナトリウム溶液を加え、ヘキサン転溶した後、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、LC-MS/MS で定量及び確認する方法を開発した。その結果、13 種のうち 9 種の BT について、定量限界値濃度 (0.4 ng/g) での添加回収試験における真度は 76.8%~114.0%、併行精度 (RSD%) は 0.7%~12.0%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。安定同位体標識化合物を用いた内部標準法により補正することで、良好な真度が認められたことから、本法による分析は可能であると考えられた。

(3-3) OPFRs 18 種について、APGC-MS/MS 法の測定条件を検討した。検量線は TBEP および TDBPP を除く 16 種類について 1~50 ng/mL の範囲で直線性が確認できた。しかし、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。LC-MS/MS を用いた食品中の 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 GPC 精製法について検討した。TD 試料 (7 群、10 群、13 群) における OPFRs の回収率は 7 群: 77.5~110.9%、10 群: 40.4~94.4%、13 群: 51.6~90.3%であり、10 群の TCEP、TDCPP、TDBPP および TEHP を除いて 50%以上の回収率が得られた。回収率が低かった OPFRs については、LC-MS/MS 測定時に試料マトリックスの影響を受けていると考えられたため、食品群によっては更なる精製を考慮する必要がある。引き続き精製方法を検討した上で、OPFRs の一斉分析の構築を目指す。

(4) 2023 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

いるが、2021 年度から 2023 年度にかけてはほぼ横ばい、ないしは極わずかに上昇していたが、統計学的な有意差は認めなかった。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。現在の濃度レベルでの母乳中ダイオキシン類では、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 2022 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。特に注目すべきは無機ヒ素で、EFSA は疫学研究を根拠に無機ヒ素の毒性の指標値を大幅に引き下げた。その結果これまでもリスク管理の優先順位は高かった無機ヒ素のリスクがさらに大きなものと見なされた。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日本の食品安全委員会と環境省の動きがあったことで、食品安全委員会の食品健康影響調査が意見募集を経て最終化された後に基準値設定などの対応が予想される。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sato T, Tobiishi K, Hori T, Tsutsumi T, Akiyama H, Matsui T : Simultaneous determination of hexabromocyclododecanes, Polybrominated diphenyl ethers, and dechlorane-related compounds in boxed sushi meals using a developed analytical method. Food Science and Technology Research, 2023;29(4): 347-356.
- 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4年度(2022)、衛研報告、141,

53-60 (2023)

- 3) 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、2003~2022 年度の 20 年間に「食品安全情報」で紹介した化学物質のトピックス、衛研報告、141, 15-32 (2023)
- 4) 畝山智香子、レギュラトリーサイエンス教材ポイントシリーズ 総論 4. 食品、PHARM TECH JAPAN, 40(2) 11-12 (2024)
- 5) Zhang TQ, Takatsuki S, Sato T, Tobiishi K, Hori T, Nabeshi H, Tsutsumi T : Polychlorinated Biphenyl Concentrations and Estimated Intakes in Fish Oil Supplements on the Japanese Market. J. Food Prot., 2024:87:100235.

2. 学会発表

- 1) 飛石和大、佐藤 環、堀 就英、堤 智昭:魚介類を主菜とする市販の調理済み食品(弁当類)中のポリ臭素化ジフェニルエーテル(PBDEs), 第 31 回環境化学討論会(2023.5).
- 2) 加藤紫花, 真宮彩乃, 長友涼介, 高山卓大, 堤 智昭, 井之上浩一:有機フッ素化合物の摂取量推定のための LC-MS/MS 分析法の検討, 第 73 回日本薬学会関西支部総会・大会 (2023.10).
- 3) 鈴木美成, 高橋未来, 近藤 翠, 張本雅恵, 穂山 浩, 堤 智昭: 食品に含まれる銀ナノ粒子の実態と曝露量推定,メタロミクス研究会 (2023.10).
- 4) 堤 智昭, 足立利華, 張 天齊, 高附 巧, 鍋師裕美: GC-MS/MS を用いた魚中のダイオキシン類分析の検討,第 119 回日本食品衛生学会学術講演会 (2023.10).
- 5) 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, 第 119 回日本食品衛生学会学術講演会 (2023.10).
- 6) 飛石和大、佐藤 環、堀 就英、堤 智昭:魚

介類を主菜とする市販の調理済み食品(弁当類)中のハロゲン系難燃剤, 第 49 回九州衛生環境技術協議会 (2023.10).

G. 知的財産権の出願、登録

なし