

Ⅱ．分担研究年度終了報告書

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1) GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

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

研究分担者 堤 智昭

令和6年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発のための研究

分担研究年度終了報告書

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1) GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

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

研究分担者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所食品部

研究要旨

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

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

足立利華、高附 巧、張 天斉、鍋師裕美

A. 研究目的

食品に含まれるダイオキシン類は極めて微量であることから二重収束型の高分解能GC/MS(以下、高分解能GC/MS)を用いた高感度分析が一般であり、食品中のダイオキシン類分析の

暫定ガイドライン(以下、ガイドライン)¹⁾にもその使用が記載されている。しかし、高分解能GC/MSは大型で高価な装置であることから、汎用性が高いとは言い難い。GC-MS/MSは高分解能GC/MSと比較すると一般的に検出感度は劣るものの、小型で廉価であるため食品中の有害化学物質の分析に汎用されている。ヨーロッパでは食品にダイオキシン類の規制値が設けられており、最近では規制値への適合判定のための分析に高分解能GC/MSと共に、GC-MS/MSの使用

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

B. 研究方法

1. 試薬及び器具

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

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

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

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

認証標準試料として、WMF-01 (キングサーモン切り身の凍結乾燥物)を(株)ウェリントンラボラトリージャパンより購入した。

2. 機器

- ・ホモジナイザー:レッチェ社製 GM200
- ・GC-MS/MS: TSQ 9000 トリプル四重極 GC-MS/MS システム(Thermo Scientific 社製) with advanced electron ionization (AEI) source
- ・高分解能 GC/MS: 7890B (Agilent Technologies)/MStation JMS-800D UltraFOCUS 日本電子(株)社製

3. GC-MS/MS によるダイオキシン類分析

3-1. 試験溶液の調製

試料(50 g(認証標準試料は約 4 g))をビーカーに量りとり、クリーンアップスパイク(^{13}C 標識した PCDD/PCDFs 各 50 pg (OCDD/F は 100 pg)、ノンオルト PCBs 各 100 pg、モノオルト PCBs 各 2.5 ng)を加えた後、2 mol/L 水酸化カリウム水溶液を 200 mL 加え室温で約 16 時間放置した。このアルカリ分解液を分液ロートに移した後、メタノール 150 mL、ヘキサン 100 mL を加え 10 分間振とう抽出した。静置後、ヘキサン層を分取し、水層にヘキサン 70 mL を加え同様の操作を 2 回行った。ヘキサン抽出液を合わせ、2%塩化ナトリウム溶液 150 mL を加えて緩やかに揺り動かし、静置後、水層を除き同様の操作を繰り返した。ヘキサン層の入った分液漏斗に濃硫酸を適量加え、緩やかに振とうし、静置後、硫酸層を除去した。この操作を硫酸層の着色が薄くなるまで繰り返した。ヘキサン層をヘキサン洗浄水 10 mL で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルをヘキサン 200 mL で洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサン 200 mL で溶出した。溶出液は溶媒を留去し、約 2 mL のヘキサンに溶解した。ヘキサンで湿式充填したアルミナカラムに試験溶液を注入し、ヘキサン 150 mL で洗浄後、2% (v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 200 mL でモノオルト PCBs 分画を溶出した。次いで、60% (v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 200 mL で PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。モノオルト PCBs 分画は溶媒を留去した後、活性炭分散シリカゲルリバーカラムに注入し、30 分程度放置した。ヘキサン 40 mL でカラムを洗浄後、25% (v/v)ジクロロメタン含有ヘキサン 60 mL でモノオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリジンスパイク 500 μL (^{13}C 標識体 2.5 ng) を添加し GC-MS/MS に供した。PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画は溶媒を留去した後、活性炭分散シリカゲルリバーカラムに注入し、10 分程度放置した。25% (v/v)ジク

ロロメタン含有ヘキサン 80 mL でカラムを洗浄後、カラムを反転させ、トルエン 40 mL で PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリジンスパイク 25 μL (PCDD/PCDFs 用 ^{13}C 標識体 50 pg、ノンオルト PCB 用 ^{13}C 標識体 125 pg)を添加し GC-MS/MS に供した。

3-2. GC-MS/MS 測定条件

1) GC 条件

① 2,3,7,8 - TeCDD、1,2,3,7,8 - PeCDD、1,2,3,7,8 - PeCDF、1,2,3,4,7,8 - HxCDD、1,2,3,6,7,8 - HxCDD、1,2,3,7,8,9 - HxCDD、1,2,3,4,6,7,8 - HpCDD、OCDD、2,3,7,8 - TeCDF、1,2,3,7,8 - PeCDF、1,2,3,4,7,8 - HxCDF、1,2,3,6,7,8 - HxCDF、2,3,4,6,7,8 - HxCDF、1,2,3,4,6,7,8 - HpCDF、1,2,3,4,7,8,9 - HpCDF、OCDF

カラム:BPX-DXN(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:280°C

注入量:2 μL

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

キャリアーガス:ヘリウム(流速:1.2 mL/分)

② 2,3,4,7,8-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(10 分保持)

キャリアーガス:ヘリウム(流速:1.0 mL/分)

③ Co-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℃/分-220℃-2℃/分-250℃-3℃/分-270℃-15℃/分-310℃(5分保持)

キャリアーガス:ヘリウム(流速:1.0 mL/分)

2)MS/MS 条件

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

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

3-3. 検量線の作成

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

3-4. 検出下限値及び定量下限値

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

3-5. 試験溶液の測定

試験溶液の測定開始時には3濃度の検量線用標準溶液を測定して、RRF 及び RRFss を求めた。これらの値が、検量線作成時の RRF 及び RRFss と比較し、RRF については $\pm 10\%$ 以内、

RRFss については $\pm 20\%$ 以内であることを確認した。検量線作成時の RRF 及び RRFss を用いて、試験溶液に含まれるダイオキシン類を定量した。試験溶液より得られた分析対象物質と内標準物質の面積比が検量線用標準溶液の面積比の範囲外となった場合は、外挿により定量値を算出した。

4. 高分解能 GC/MS によるダイオキシン類分析

前処理と高分解能 GC/MS 測定条件は、「(1-1)トータルダイエット試料の分析による塩素化ダイオキシン類摂取量推定」に従った。

C. 研究結果及び考察

1. GC-MS/MS 測定条件の改良

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

2. GC-MS/MS 分析法の性能評価

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

2-1. 検量線の作成(RRF 及び RRFss の算出)

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

2-2. ダイオキシン類分析の LODs 及び LOQs

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

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

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

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

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

2-4. 畜水産物に対するダイオキシン類の添加回収試験

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

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

2-5. 認証標準試料の分析

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

D. 結論

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

産物中のダイオキシン類を良好に測定可能であると考えられる。

E. 参考文献

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

物質の摂取量推定に必要な分析法の開発
に関する研究)

F.研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

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

表 1 ダイオキシン類測定 の SRM 条件

表1-1) PCDD/PCDFs

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

* RH-12ms測定時のモニターイオン

表1-2) Co-PCBs

化合物			定量イオン		定性イオン	
			SRM transition (<i>m/z</i>)	CE (eV)	SRM transition (<i>m/z</i>)	CE (eV)
分析対象物質	ノンオルト PCBs	3,3',4,4'-TCB (#77).....	289.9 > 219.9	22	291.9 > 221.9	22
		3,4,4',5'-TCB (#81)				
		3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	323.9 > 253.9	22	325.9 > 255.9	22
		3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	359.9 > 289.9	25	357.9 > 287.9	25
	モノオルト PCBs	2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	323.9 > 253.9	22	325.9 > 255.9	22
		2,3,4,4',5'-PeCB (#114)				
		2,3',4,4',5'-PeCB (#118)				
		2',3,4,4',5'-PeCB (#123)				
		2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	359.9 > 289.9	25	357.9 > 287.9	25
		2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)				
		2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)				
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)				
内標準物質 (クリーンアップ スパイク)	ノンオルト PCBs	¹³ C ₁₂ -3,3',4,4'-TCB (#77).....	301.9 > 231.9	22	303.9 > 233.9	22
		¹³ C ₁₂ -3,4,4',5'-TCB (#81)				
		¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	335.9 > 265.9	22	337.9 > 267.9	22
		¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	371.9 > 301.9	25	369.9 > 299.9	25
	モノオルト PCBs	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	335.9 > 265.9	22	337.9 > 267.9	22
		¹³ C ₁₂ -2,3,4,4',5'-PeCB (#114)				
		¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5'-PeCB (#118)				
		¹³ C ₁₂ -2',3,4,4',5'-PeCB (#123)				
		¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	371.9 > 301.9	25	369.9 > 299.9	25
		¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)				
		¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)				
		¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)				
内標準物質 (シリジンスパイク)		¹³ C ₁₂ -3,3',4,5'-TCB (#79)	301.9 > 231.9	22	303.9 > 233.9	22

表 2 検量線用標準溶液の組成と濃度

表2-1) PCDD/PCDFs

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

表2-2) Co-PCBs

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

表 3 検量線用標準溶液の RRF 及び RRF_{ss}

表3-1) PCDD/PCDFs

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

1) RH-12ms測定データ

表3-2) Co-PCBs

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

表 4 試料測定時の LODs 及び LOQs

表4-1) PCDD/PCDFs

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

1)食品試料50 g使用時

2)食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン(平成20年2月)

表4-2) Co-PCBs

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

1)食品試料50 g使用時

2)食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン(平成20年2月)

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

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

1) nd: not detected

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

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

1) tr: trace (LOD ≤ tr < LOQ)

2) nd: not detected

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

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

1) nd: not detected

2) tr: trace ($\text{LOD} \leq \text{tr} < \text{LOQ}$)

表 8 添加回収試験結果

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

表 9 認証標準試料(WMF-01)の分析結果

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

1) * は参考値

2) LODs以上LOQs未満

3) LODs未満

2,3,7,8-TeCDD



1,2,3,7,8-PeCDD

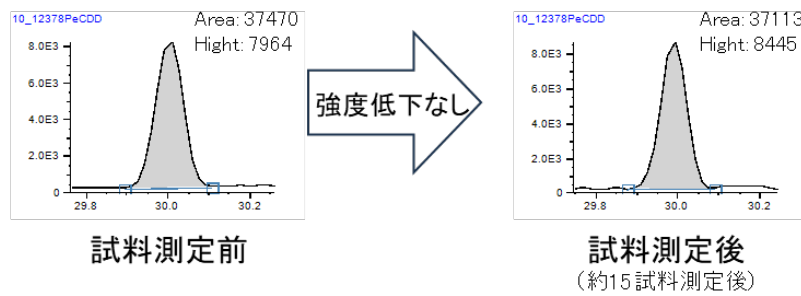
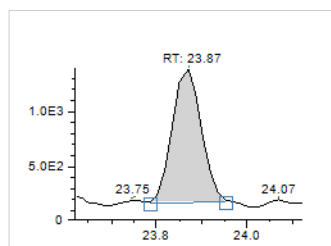
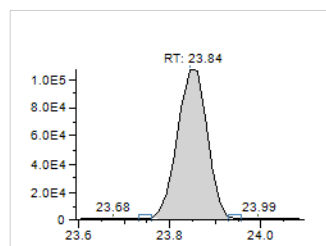


図 1 BPX-DXN におけるの試料測定前後のピーク強度の変化
(2,3,7,8-TeCDD/1,2,3,7,8-PeCDD)

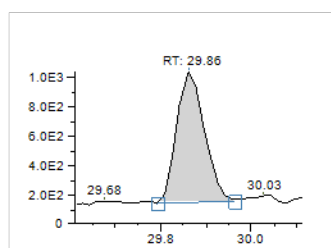
2,3,7,8-TeCDD



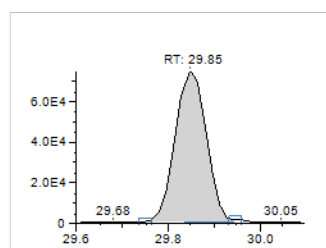
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDD



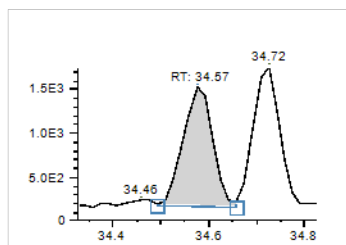
1,2,3,7,8-PeCDD



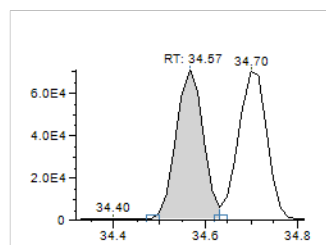
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDD



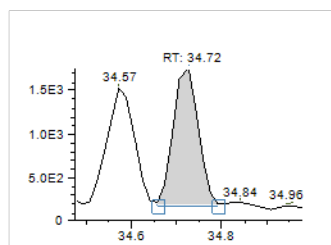
1,2,3,4,7,8-HxCDD



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDD



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDD

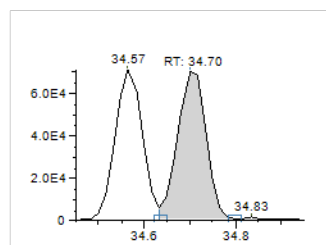
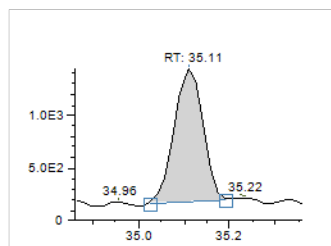
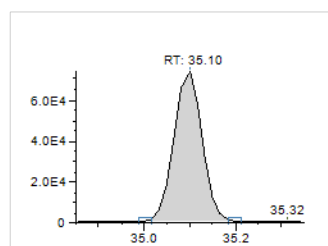


図 2 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (PCDD/PCDFs)

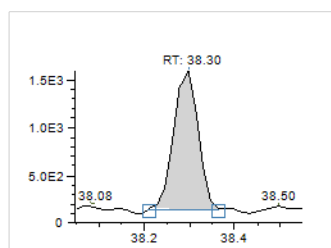
1,2,3,7,8,9-HxCDD



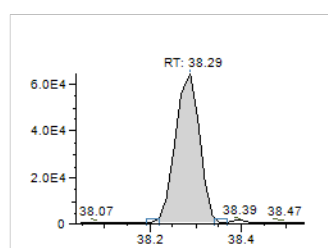
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD



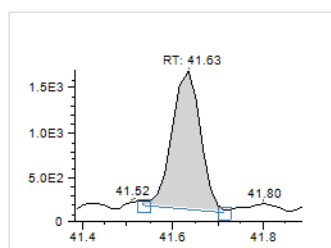
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



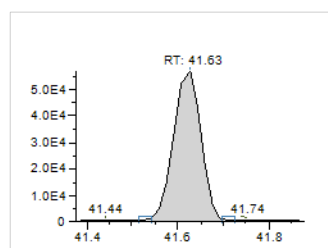
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



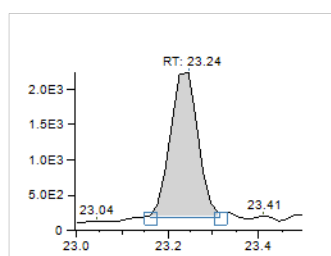
OCDD



$^{13}\text{C}_{12}$ -OCDD



2,3,7,8-TeCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDF

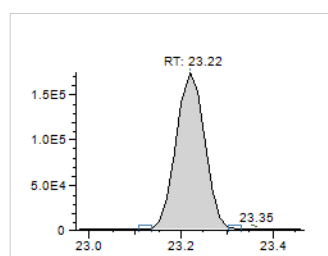
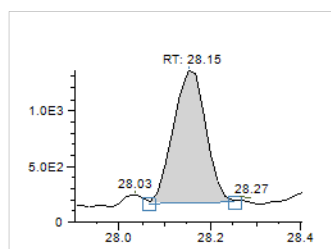
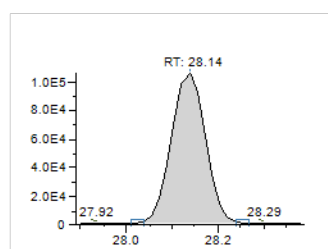


図 2 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (PCDD/PCDFs) (つづき)

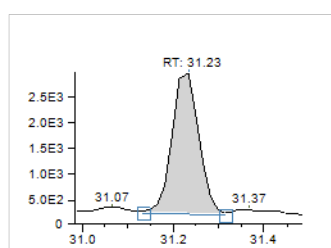
1,2,3,7,8-PeCDF



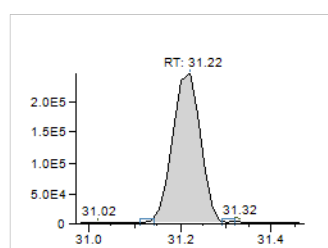
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDF



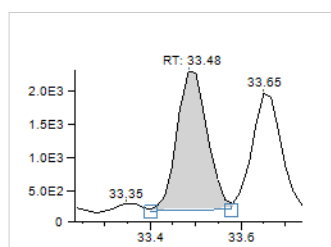
2,3,4,7,8-PeCDF



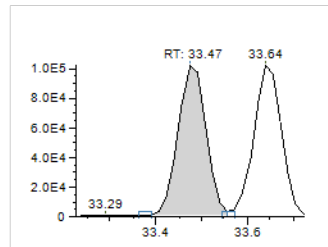
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,7,8-PeCDF



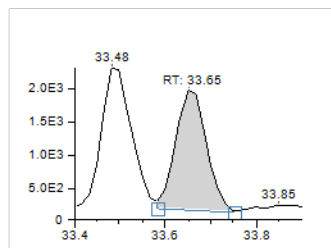
1,2,3,4,7,8-HxCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDF



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDF

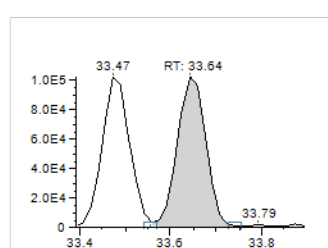
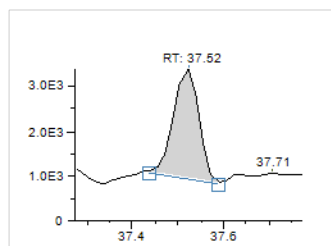
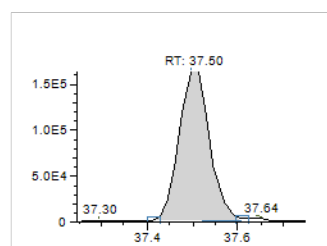


図 2 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (PCDD/PCDFs) (つづき)

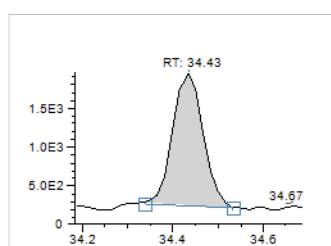
1,2,3,7,8,9-HxCDF



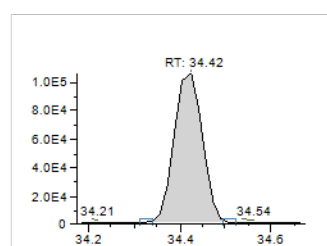
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDF



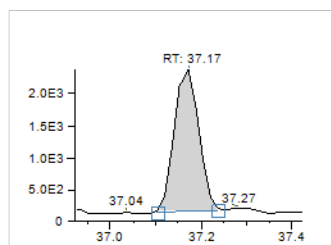
2,3,4,6,7,8-HxCDF



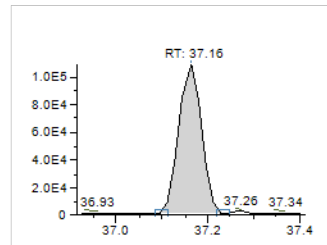
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,6,7,8-HxCDF



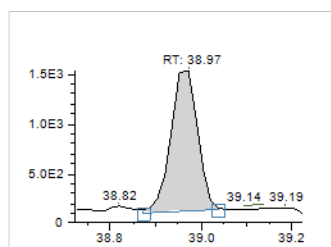
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF

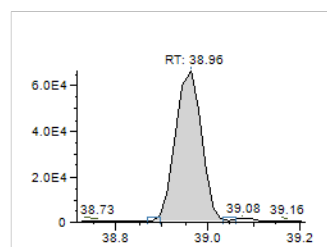
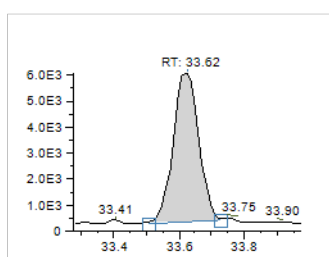


図 2 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (PCDD/PCDFs) (つづき)

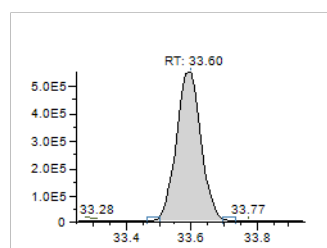


図 2 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (PCDD/PCDFs) (つづき)

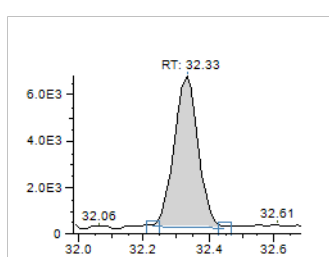
PCB 77



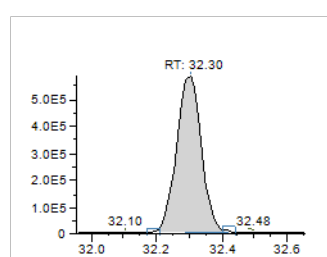
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 77



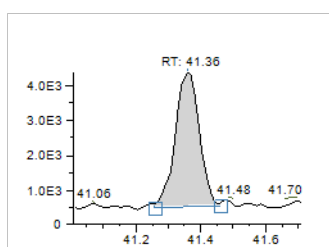
PCB 81



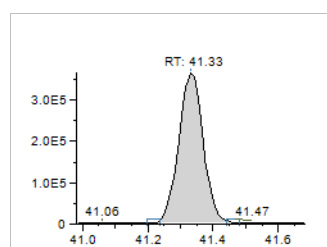
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 81



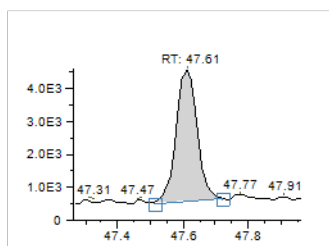
PCB 126



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 126



PCB 169



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 169

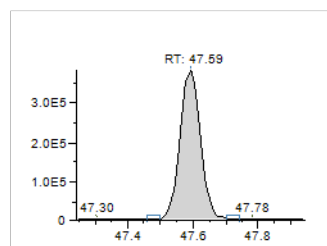
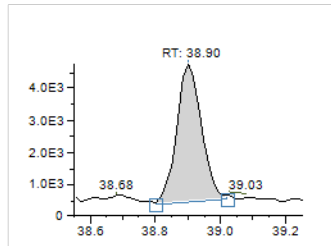
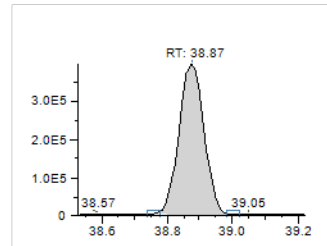


図 3 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (Co-PCBs)

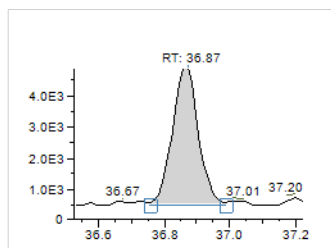
PCB 105



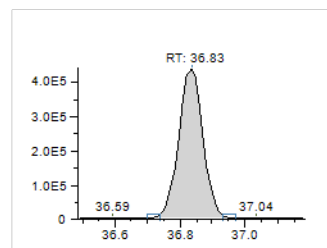
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 105



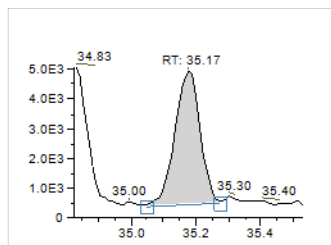
PCB 114



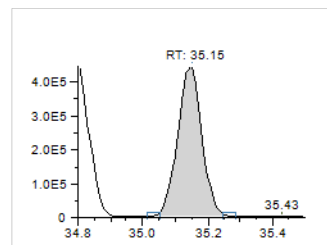
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 114



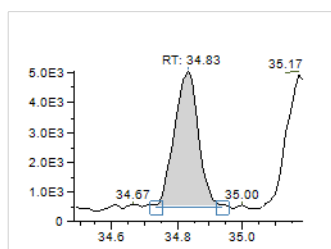
PCB 118



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 118



PCB 123



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 123

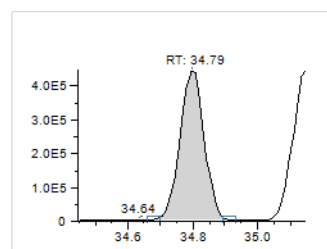
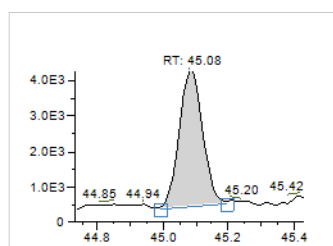
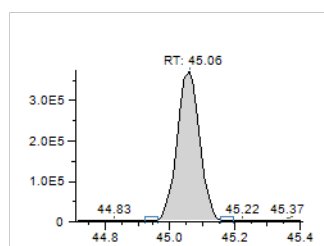


図 3 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (Co-PCBs) (つづき)

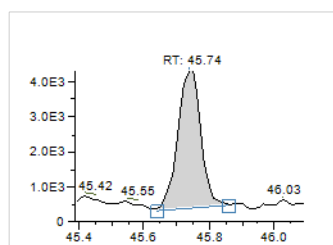
PCB 156



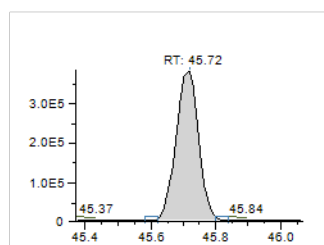
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 156



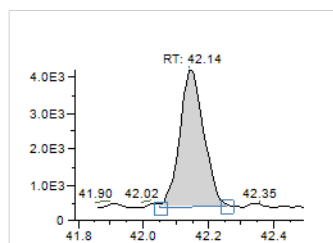
PCB 157



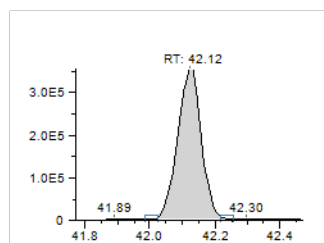
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 157



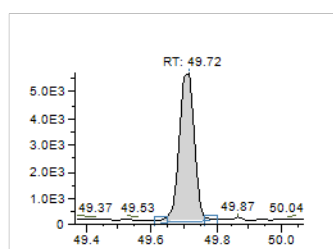
PCB 167



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 167



PCB 189



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 189

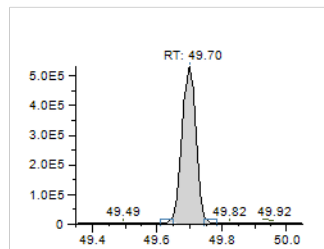
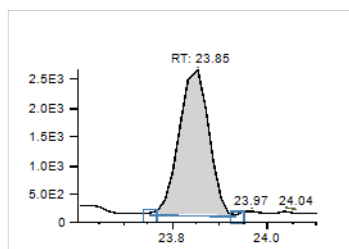
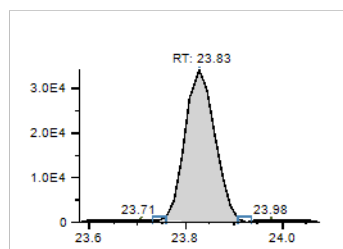


図 3 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (Co-PCBs) (つづき)

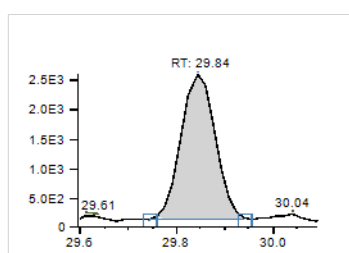
2,3,7,8-TeCDD



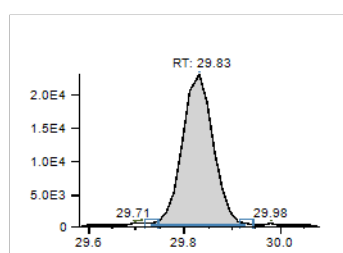
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDD



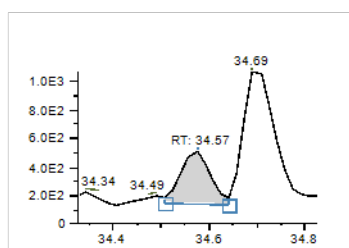
1,2,3,7,8-PeCDD



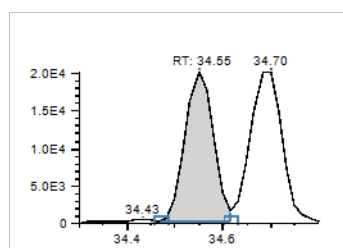
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDD



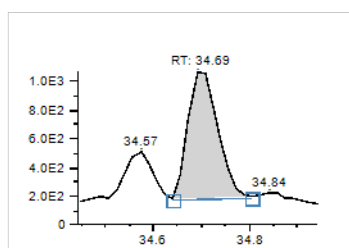
1,2,3,4,7,8-HxCDD



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDD



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDD

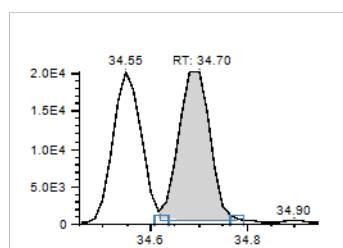
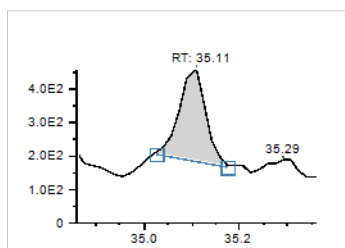
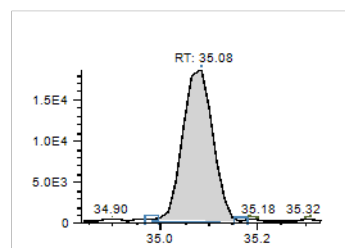


図 4 ボラの SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs)

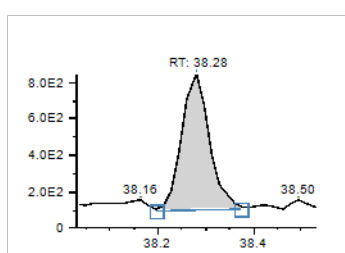
1,2,3,7,8,9-HxCDD



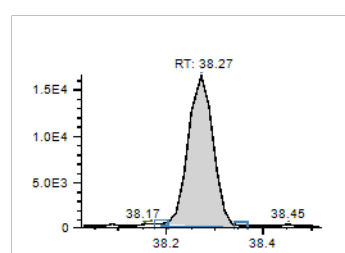
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD



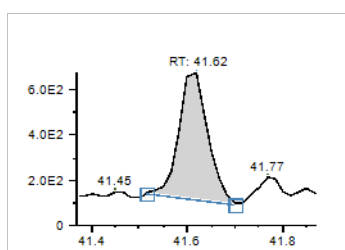
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



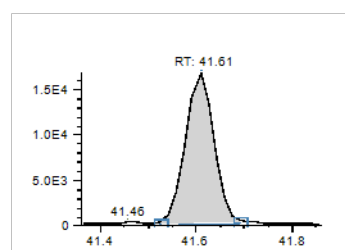
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



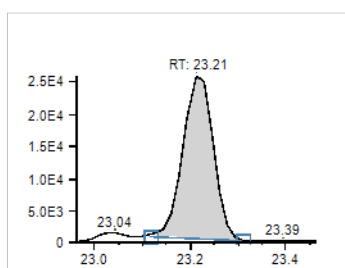
OCDD



$^{13}\text{C}_{12}$ -OCDD



2,3,7,8-TeCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDF

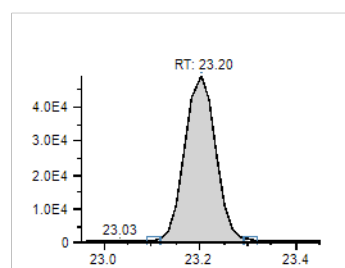
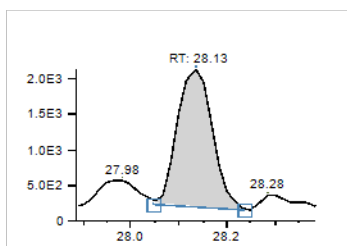
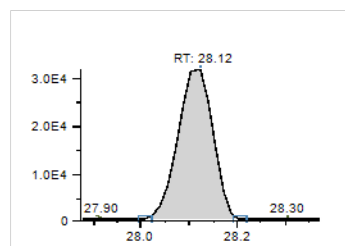


図 4 ボラの SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

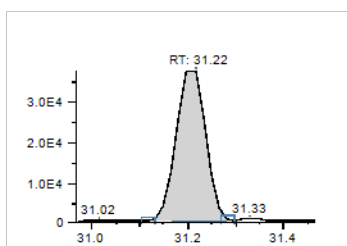
1,2,3,7,8-PeCDF



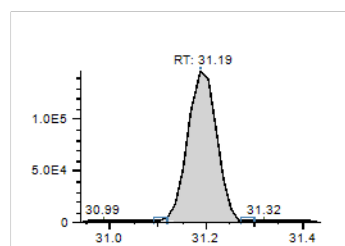
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDF



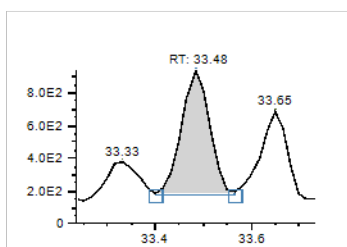
2,3,4,7,8-PeCDF



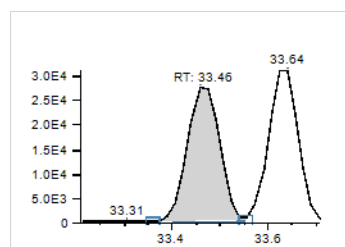
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,7,8-PeCDF



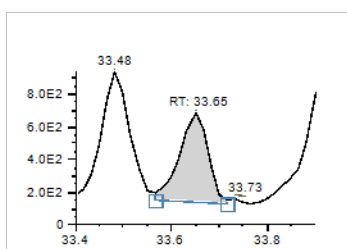
1,2,3,4,7,8-HxCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDF



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDF

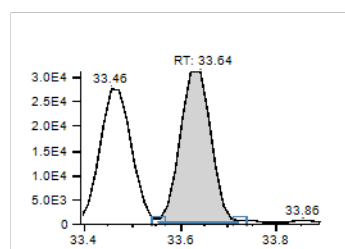
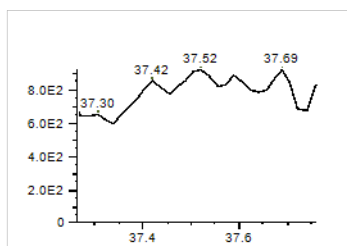
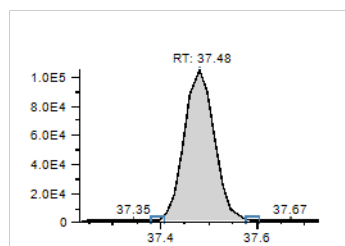


図 4 ボラの SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

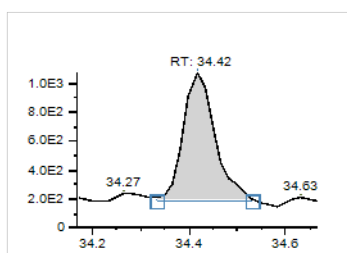
1,2,3,7,8,9-HxCDF



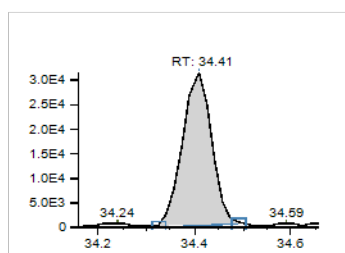
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDF



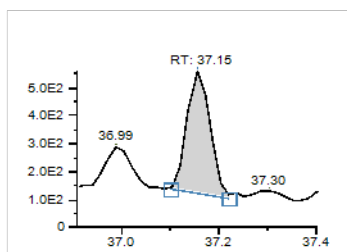
2,3,4,6,7,8-HxCDF



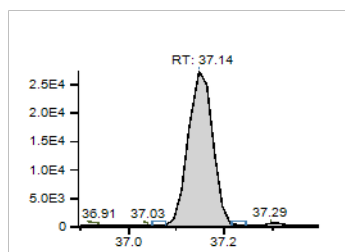
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,6,7,8-HxCDF



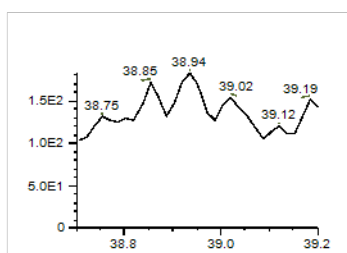
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF

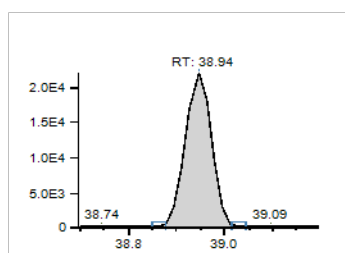
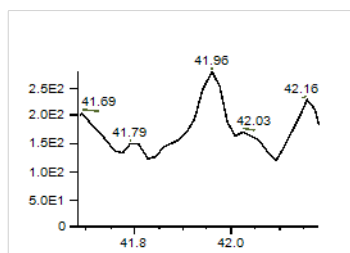


図 4 ボラの SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

OCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -OCDF

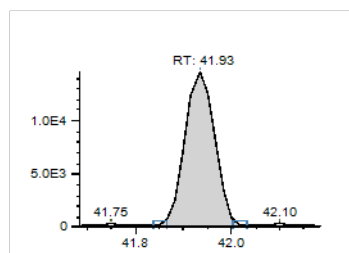
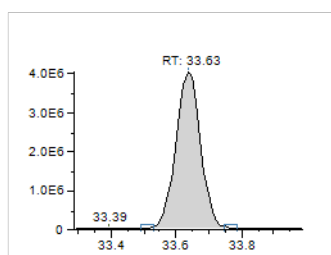
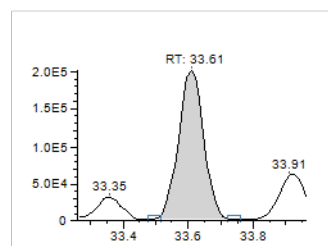


図 4 ボラの SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

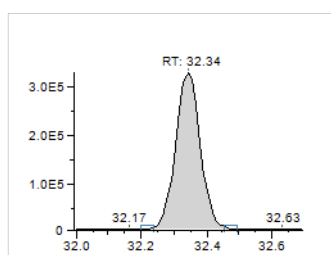
PCB 77



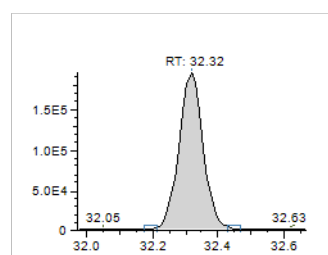
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 77



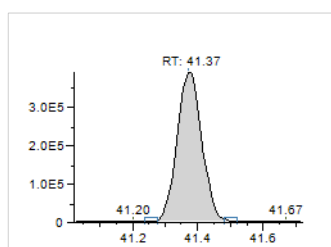
PCB 81



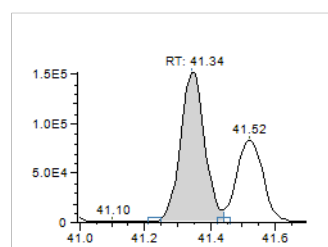
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 81



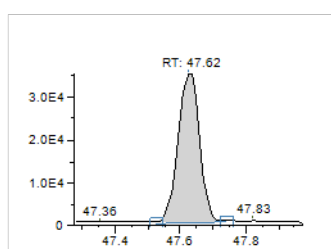
PCB 126



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 126



PCB 169



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 169

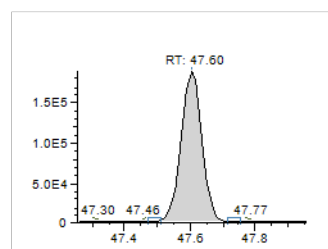
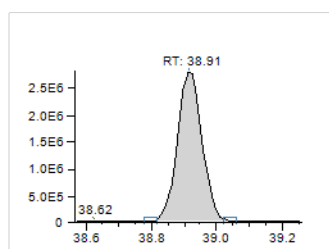
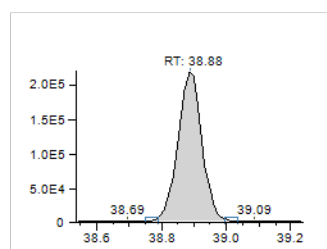


図 5 ボラの SRM クロマトグラム (Co-PCBs)

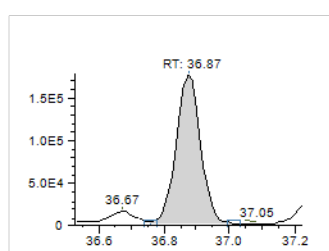
PCB 105



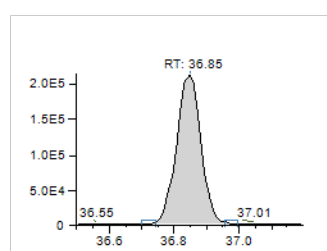
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 105



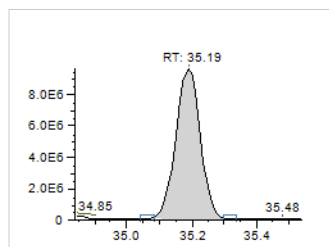
PCB 114



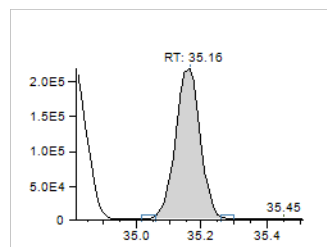
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 114



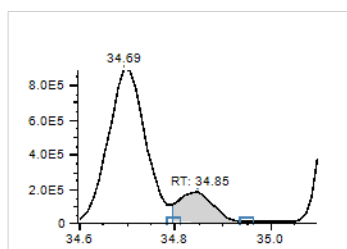
PCB 118



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 118



PCB 123



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 123

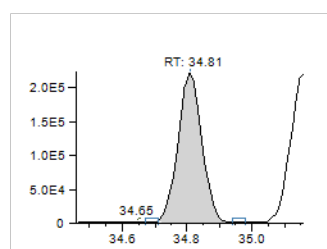
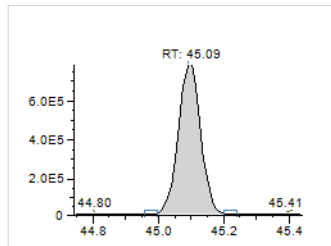
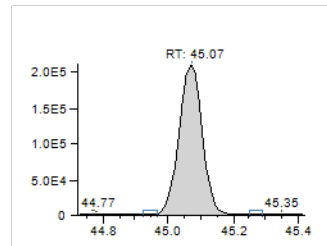


図 5 ボラの SRM クロマトグラム (Co-PCBs) (つづき)

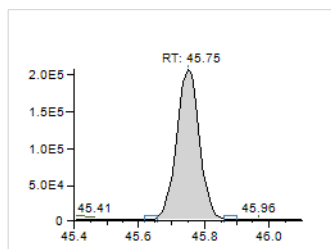
PCB 156



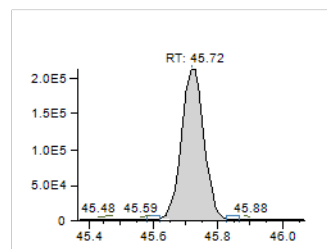
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 156



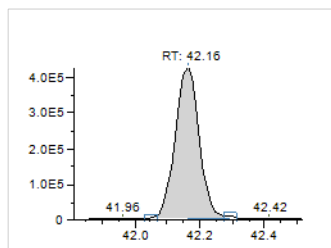
PCB 157



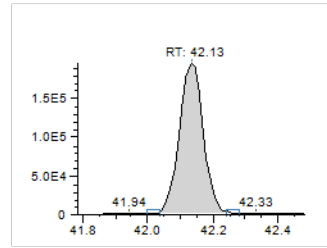
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 157



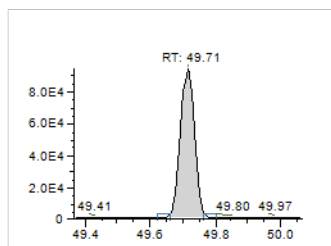
PCB 167



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 167



PCB 189



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 189

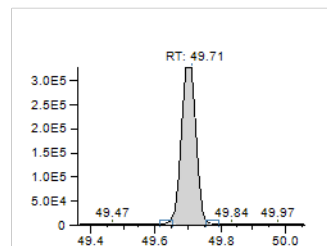
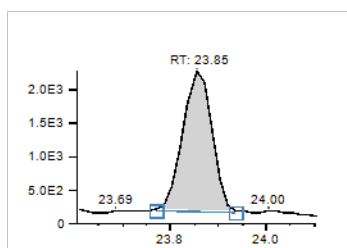
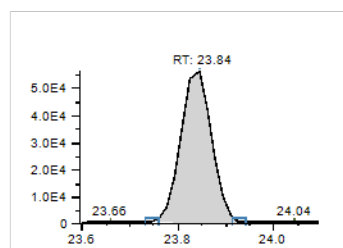


図 5 ボラの SRM クロマトグラム (Co-PCBs) (つづき)

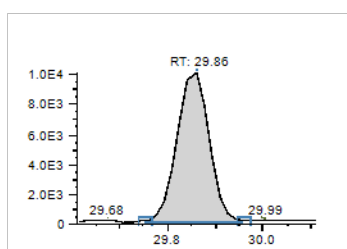
2,3,7,8-TeCDD



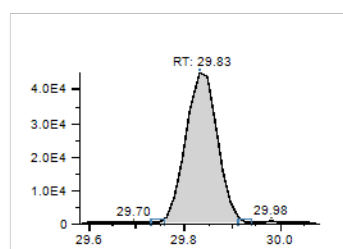
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDD



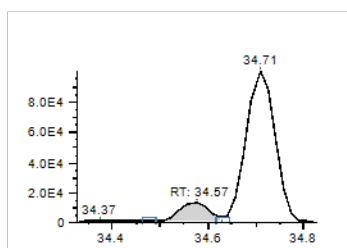
1,2,3,7,8-PeCDD



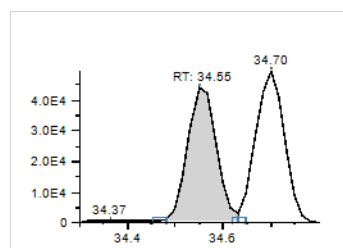
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDD



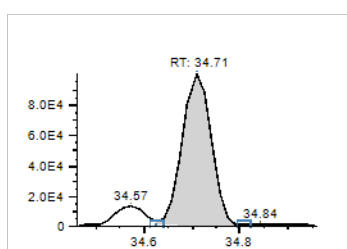
1,2,3,4,7,8-HxCDD



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDD



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDD

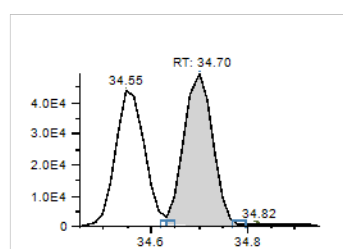
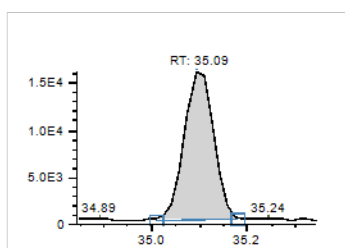
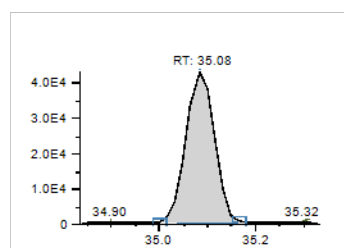


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs)

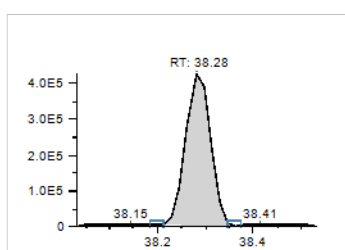
1,2,3,7,8,9-HxCDD



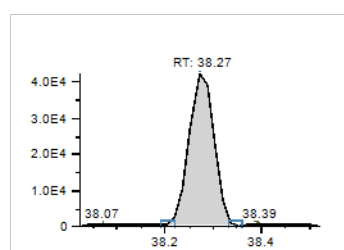
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD



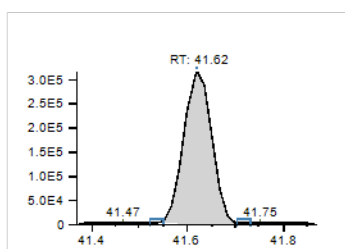
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



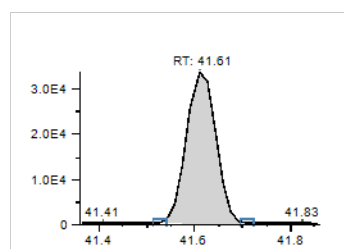
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



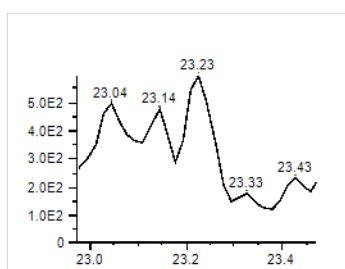
OCDD



$^{13}\text{C}_{12}$ -OCDD



2,3,7,8-TeCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDF

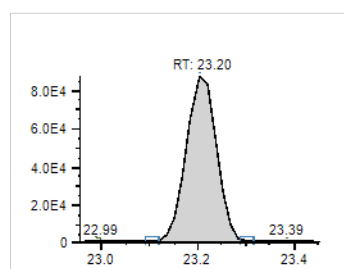
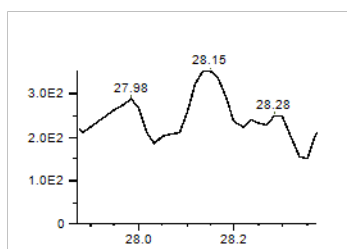
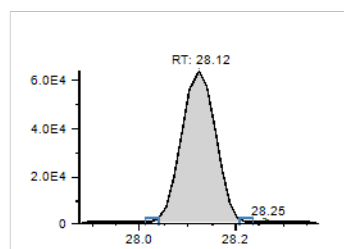


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

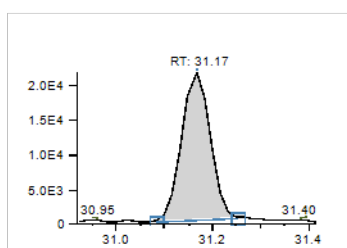
1,2,3,7,8-PeCDF



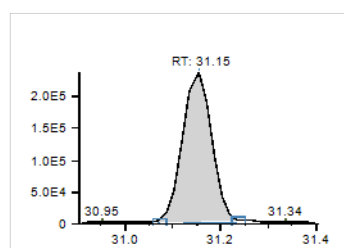
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDF



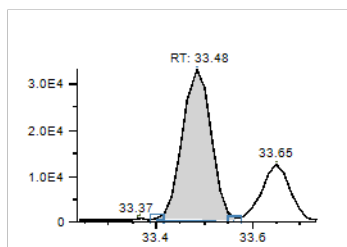
2,3,4,7,8-PeCDF



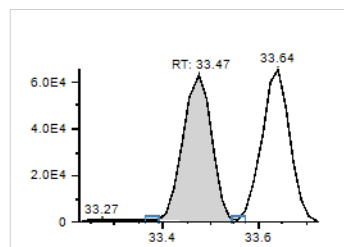
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,7,8-PeCDF



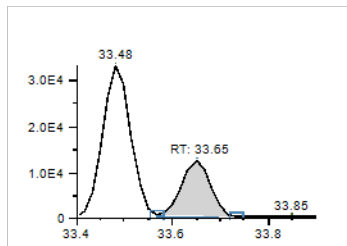
1,2,3,4,7,8-HxCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDF



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDF

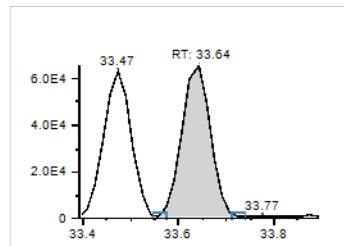
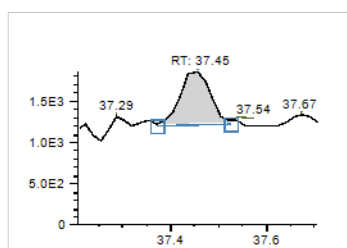
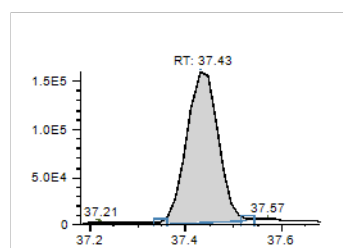


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

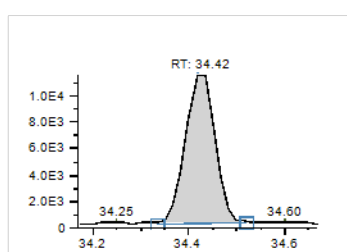
1,2,3,7,8,9-HxCDF



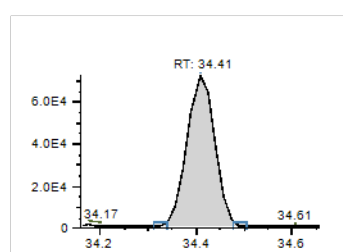
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDF



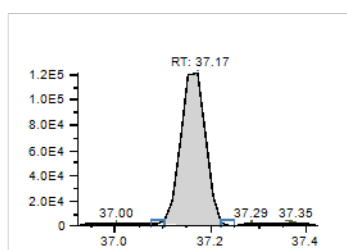
2,3,4,6,7,8-HxCDF



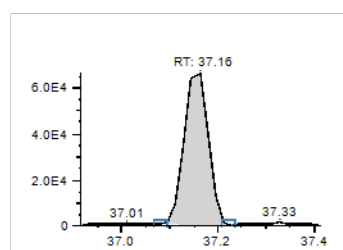
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,6,7,8-HxCDF



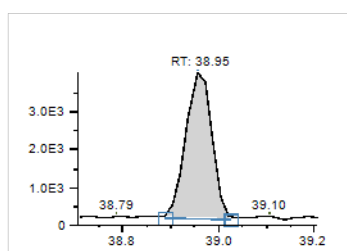
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF

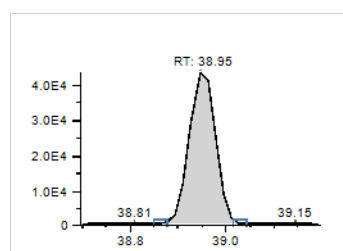
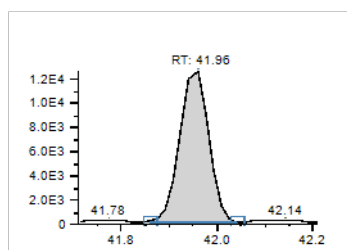


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

OCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -OCDF

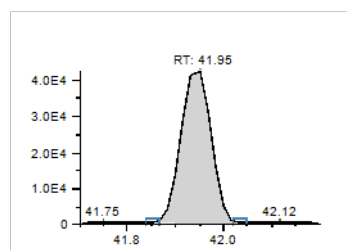
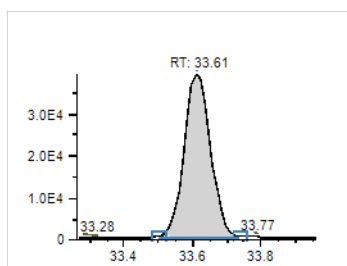
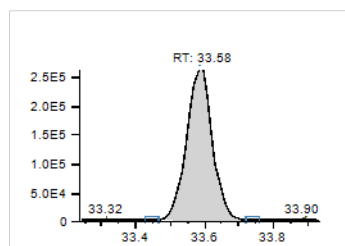


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

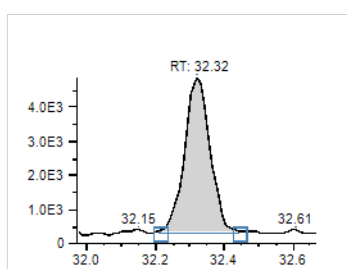
PCB 77



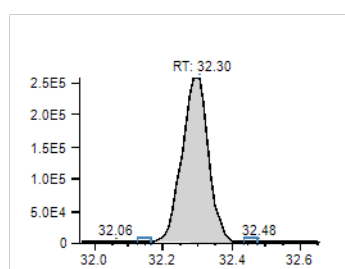
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 77



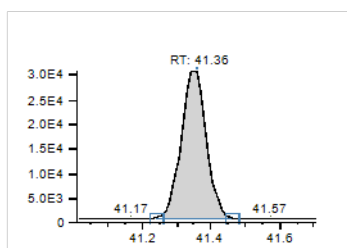
PCB 81



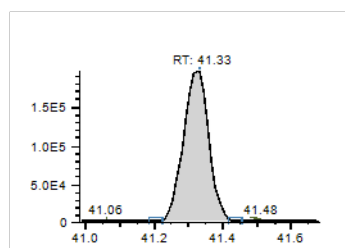
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 81



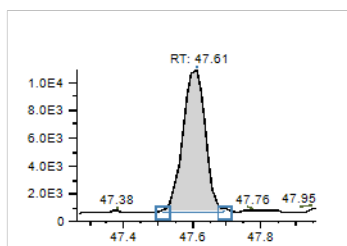
PCB 126



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 126



PCB 169



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 169

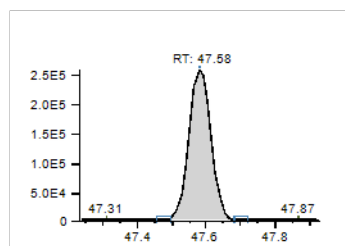
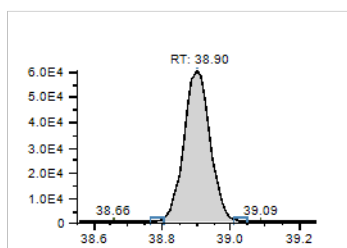
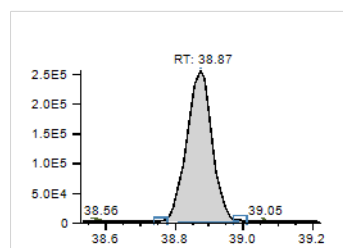


図 7 牛肉の SRM クロマトグラム (Co-PCBs)

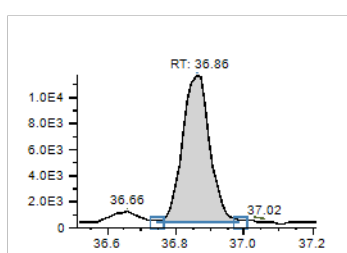
PCB 105



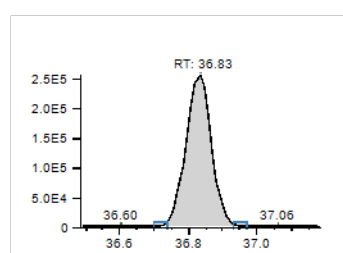
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 105



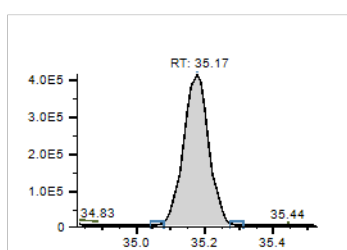
PCB 114



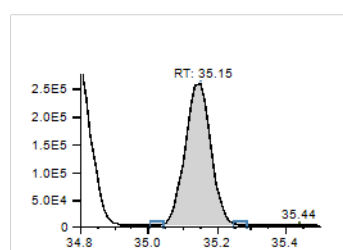
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 114



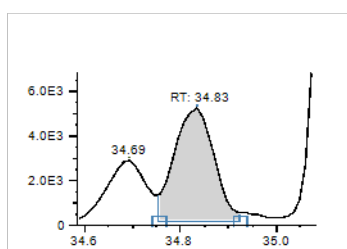
PCB 118



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 118



PCB 123



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 123

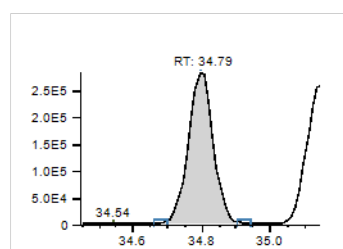
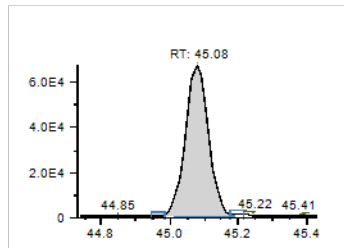
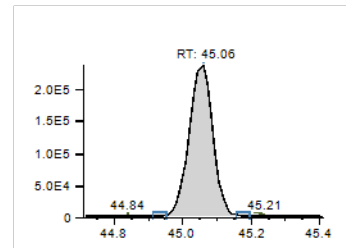


図 7 牛肉の SRM クロマトグラム (Co-PCBs) (つづき)

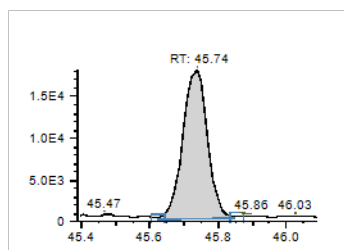
PCB 156



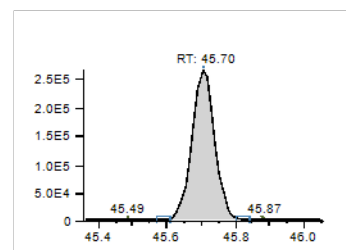
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 156



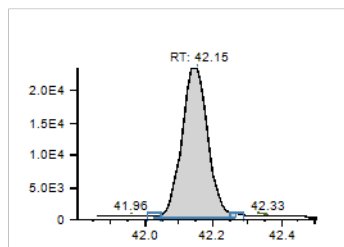
PCB 157



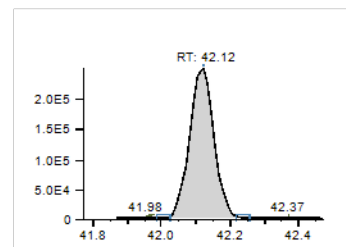
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 157



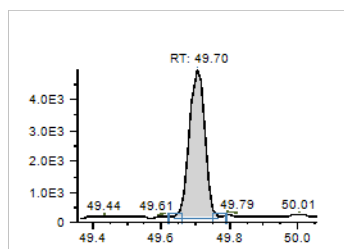
PCB 167



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 167



PCB 189



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 189

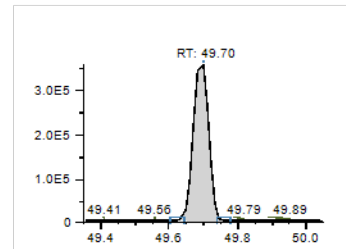
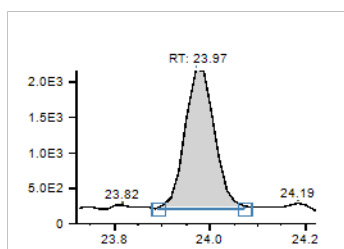
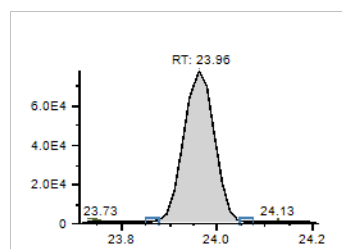


図 7 牛肉の SRM クロマトグラム (Co-PCBs) (つづき)

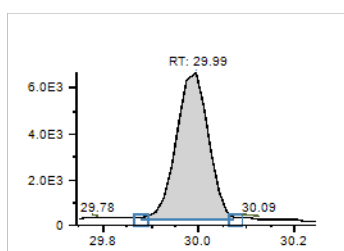
2,3,7,8-TeCDD



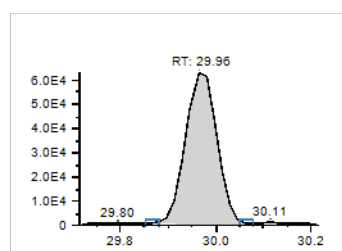
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDD



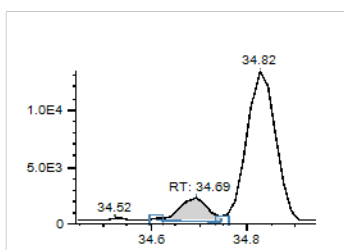
1,2,3,7,8-PeCDD



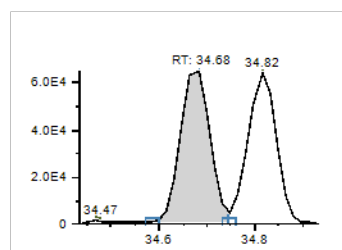
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDD



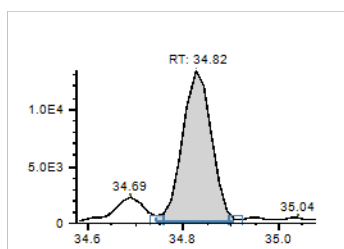
1,2,3,4,7,8-HxCDD



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDD



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDD

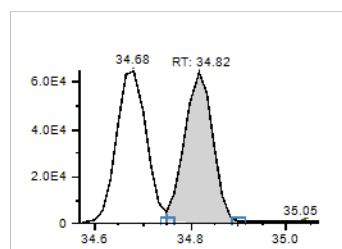
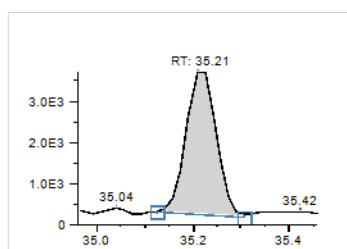
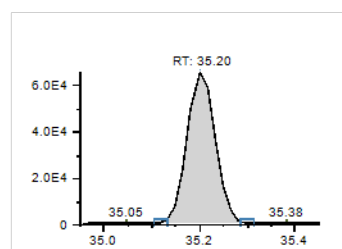


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs)

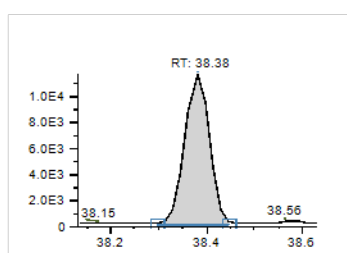
1,2,3,7,8,9-HxCDD



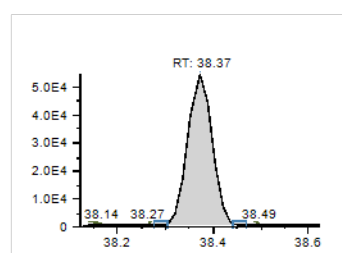
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD



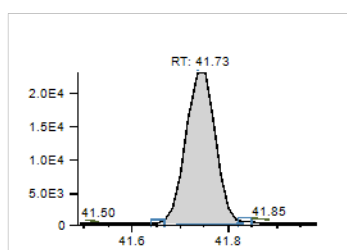
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



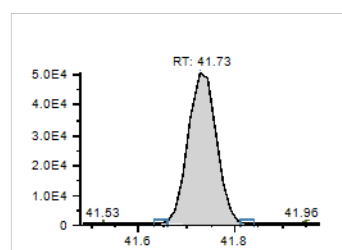
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



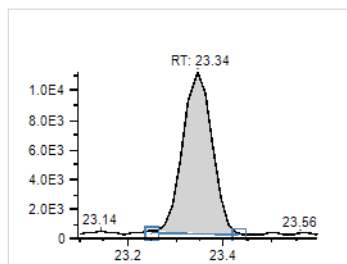
OCDD



$^{13}\text{C}_{12}$ -OCDD



2,3,7,8-TeCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDF

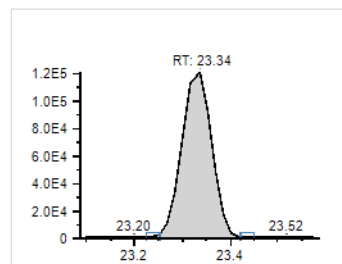
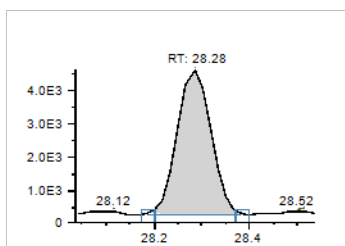
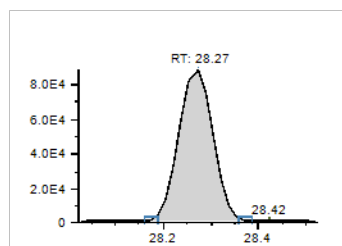


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

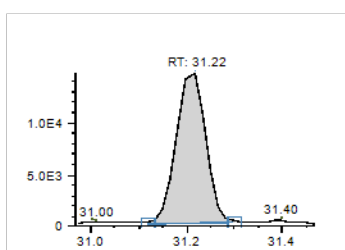
1,2,3,7,8-PeCDF



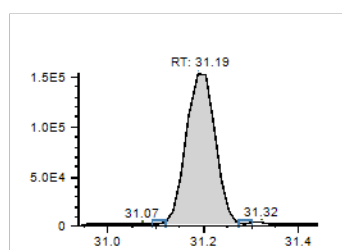
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDF



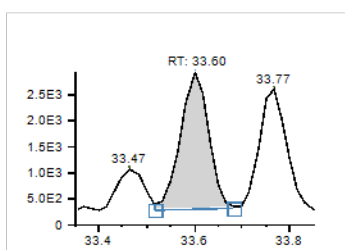
2,3,4,7,8-PeCDF



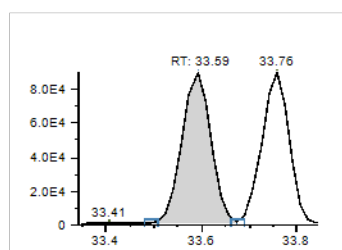
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,7,8-PeCDF



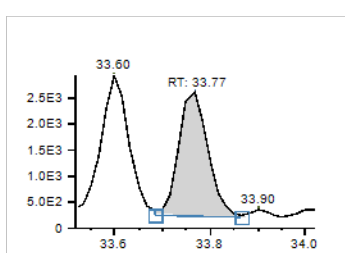
1,2,3,4,7,8-HxCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDF



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDF

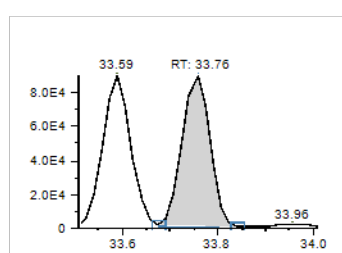
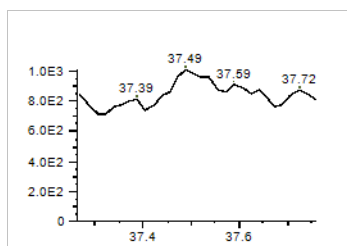
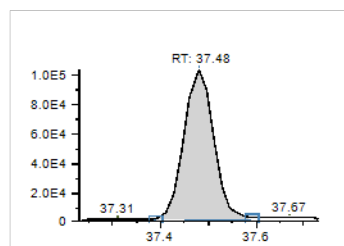


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

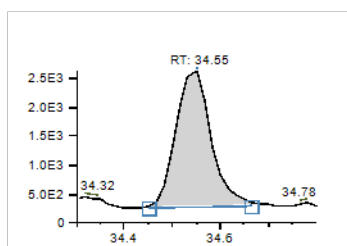
1,2,3,7,8,9-HxCDF



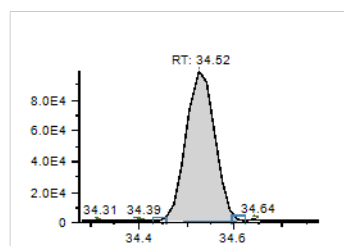
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDF



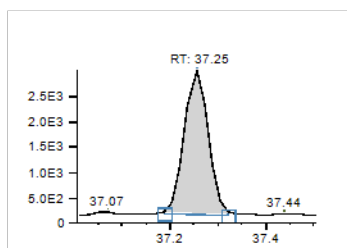
2,3,4,6,7,8-HxCDF



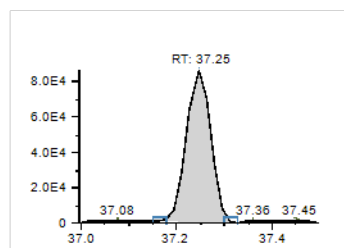
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,6,7,8-HxCDF



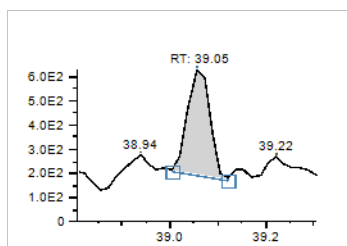
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF

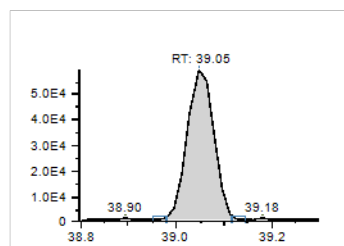
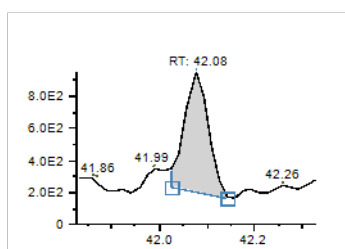


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

OCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -OCDF

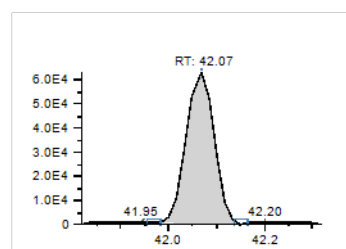
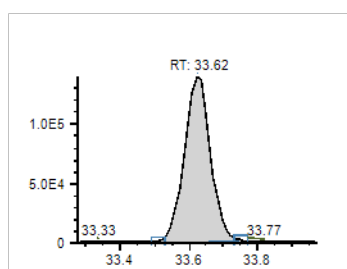
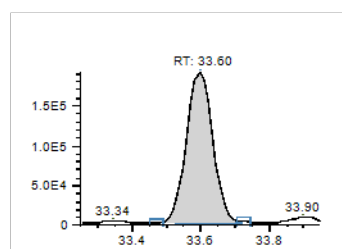


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

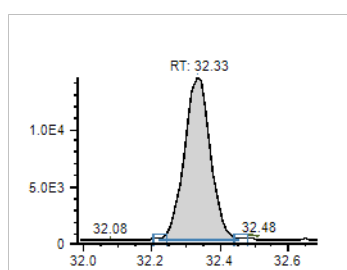
PCB 77



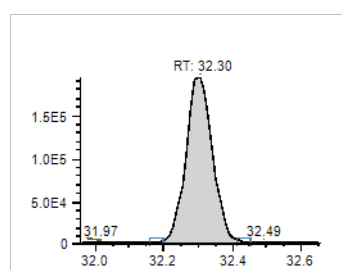
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 77



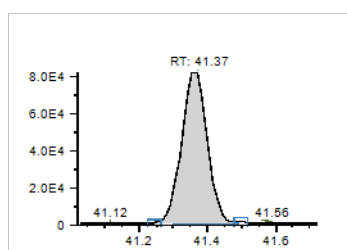
PCB 81



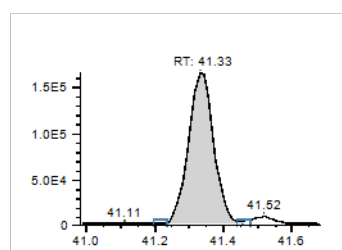
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 81



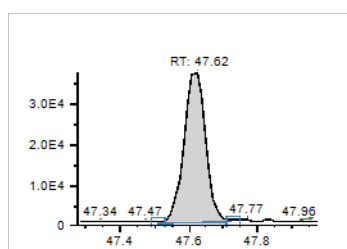
PCB 126



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 126



PCB 169



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 169

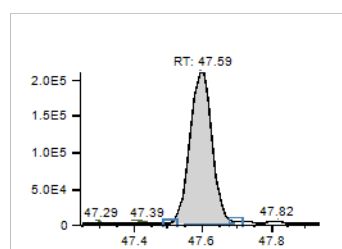
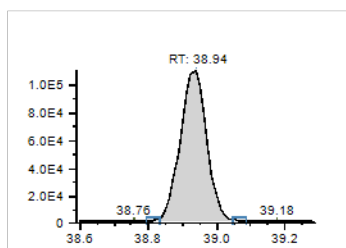
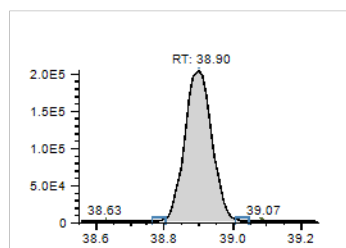


図 9 鶏卵の SRM クロマトグラム (Co-PCBs)

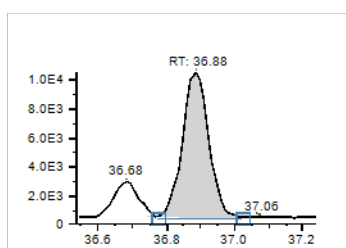
PCB 105



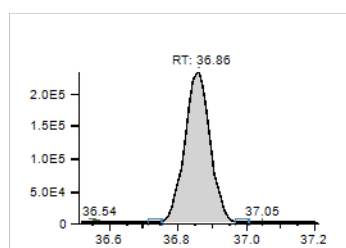
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 105



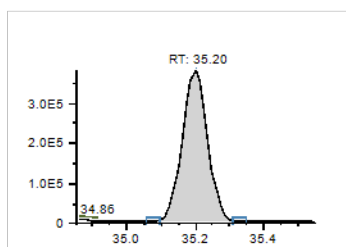
PCB 114



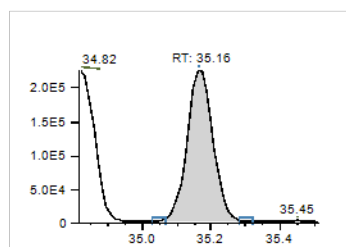
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 114



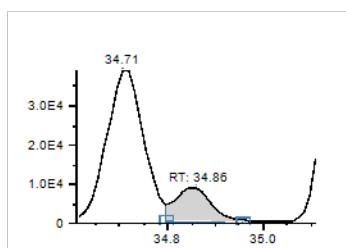
PCB 118



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 118



PCB 123



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 123

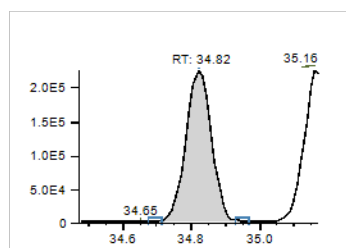
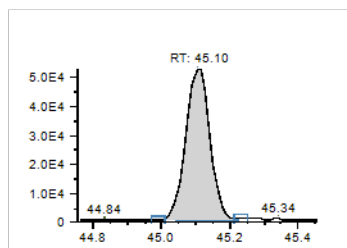
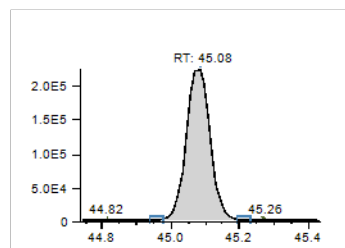


図 9 鶏卵の SRM クロマトグラム (Co-PCBs) (つづき)

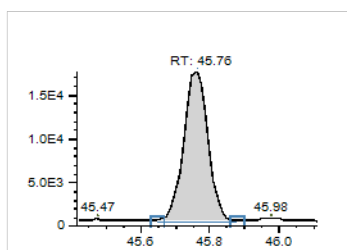
PCB 156



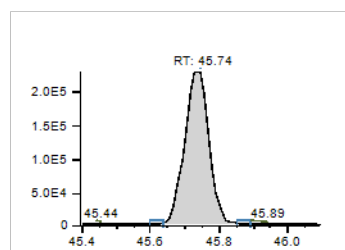
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 156



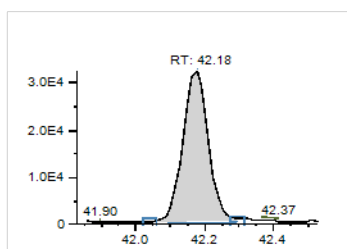
PCB 157



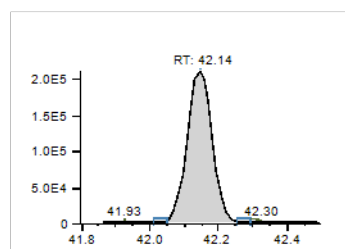
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 157



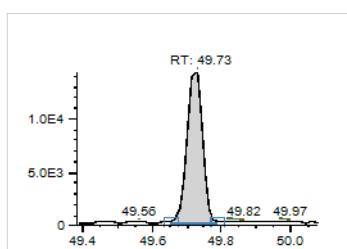
PCB 167



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 167



PCB 189



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 189

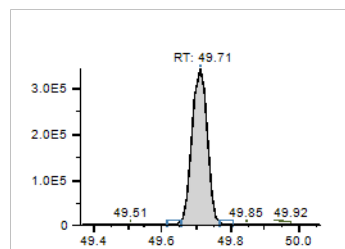
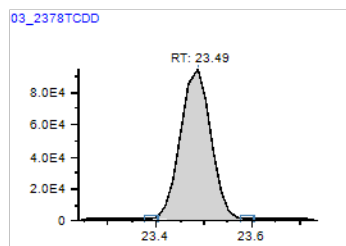
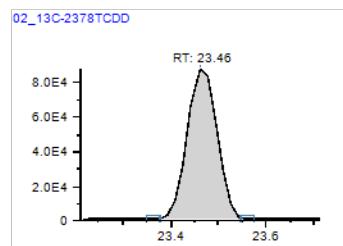


図 9 鶏卵の SRM クロマトグラム (Co-PCBs) (つづき)

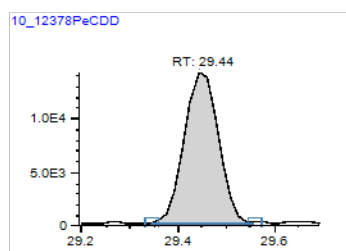
2,3,7,8-TeCDD



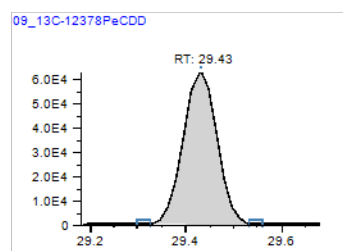
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDD



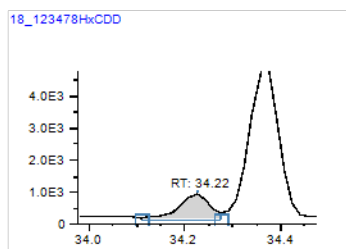
1,2,3,7,8-PeCDD



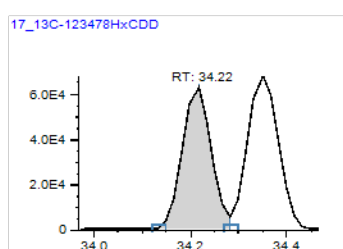
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDD



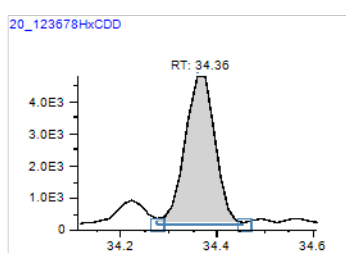
1,2,3,4,7,8-HxCDD



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDD



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDD

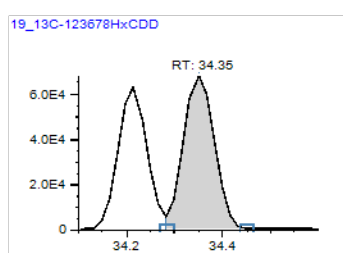
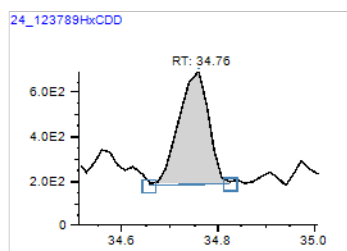
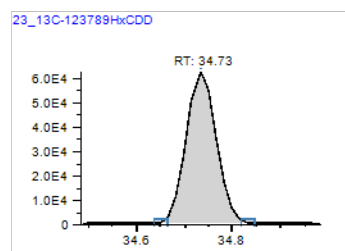


図 10 WMF-01 の SRM クロマトグラム (PCDD/PCDFs)

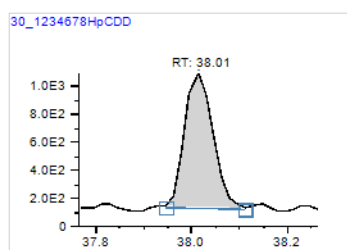
1,2,3,7,8,9-HxCDD



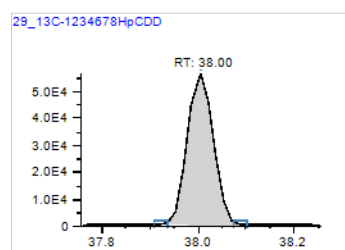
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD



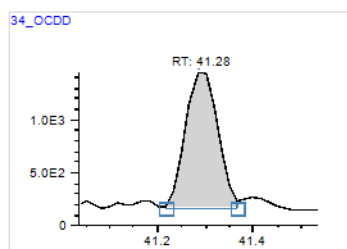
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



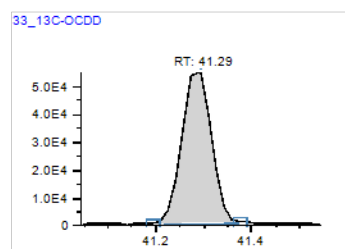
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD



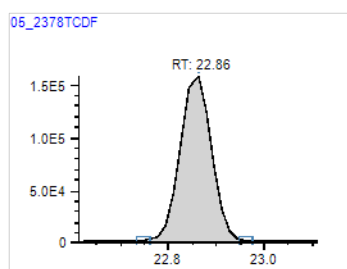
OCDD



$^{13}\text{C}_{12}$ -OCDD



2,3,7,8-TeCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TeCDF

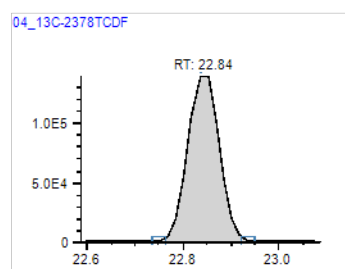
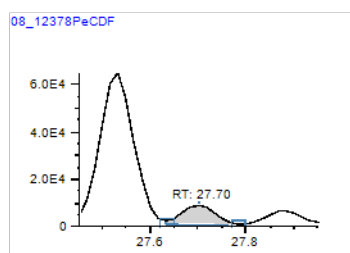
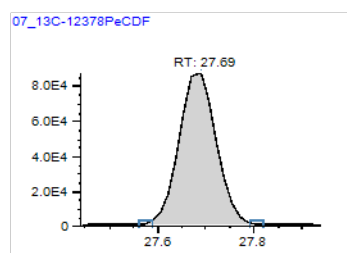


図 10 WMF-01 の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

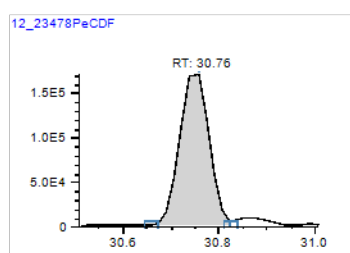
1,2,3,7,8-PeCDF



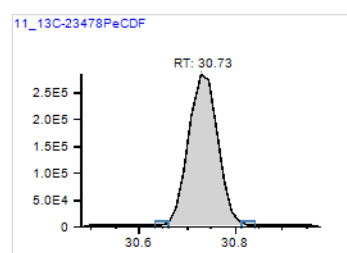
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8-PeCDF



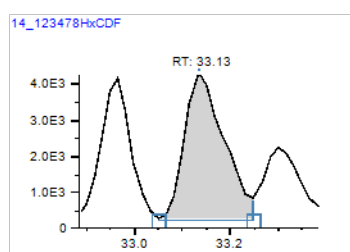
2,3,4,7,8-PeCDF



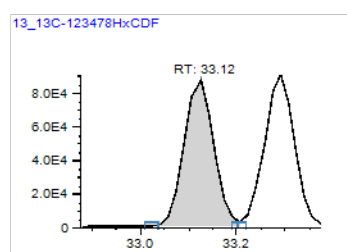
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,7,8-PeCDF



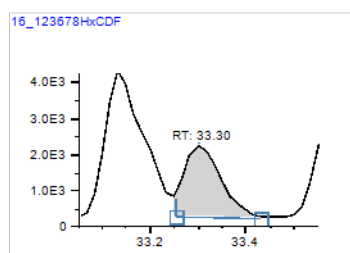
1,2,3,4,7,8-HxCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8-HxCDF



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDF

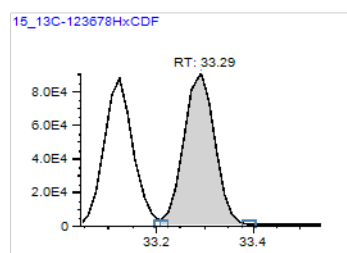
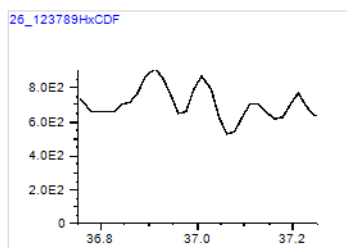
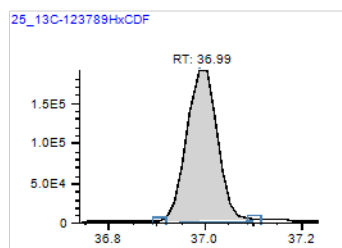


図 10 WMF-01 の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

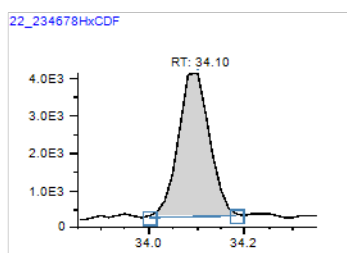
1,2,3,7,8,9-HxCDF



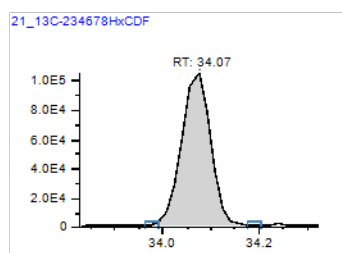
$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDF



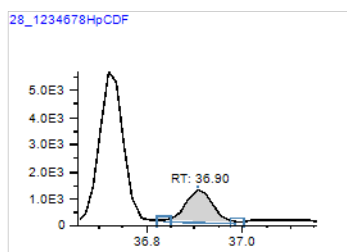
2,3,4,6,7,8-HxCDF



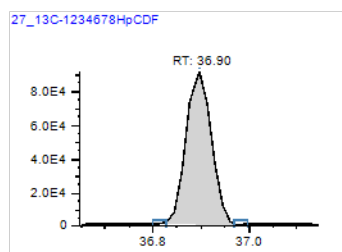
$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,6,7,8-HxCDF



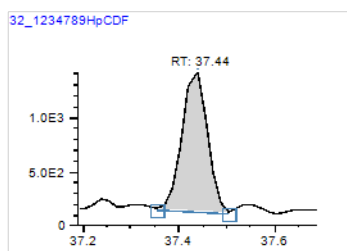
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF



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



$^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF

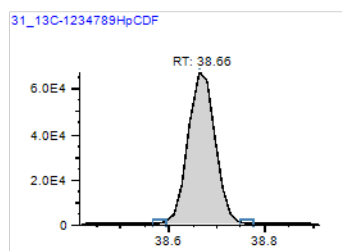


図 10 WMF-01 の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

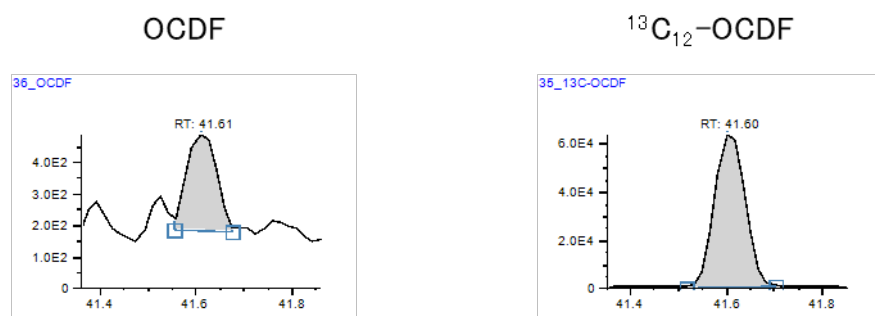
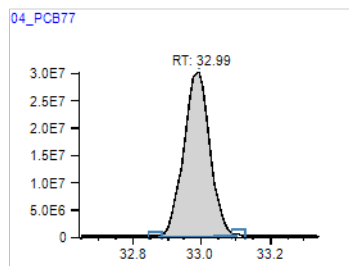
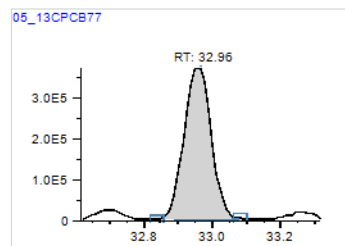


図 10 WMF-01 の SRM クロマトグラム(PCDD/PCDFs) (つづき)

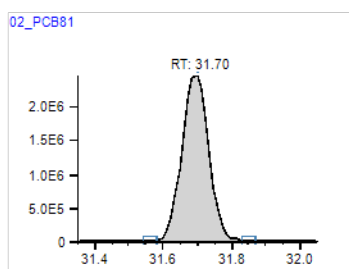
PCB 77



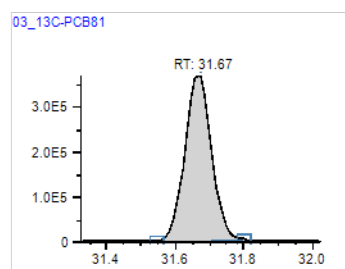
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 77



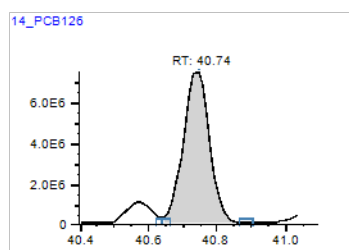
PCB 81



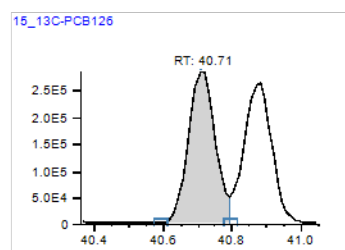
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 81



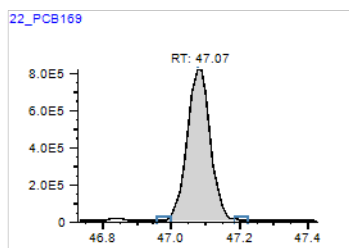
PCB 126



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 126



PCB 169



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 169

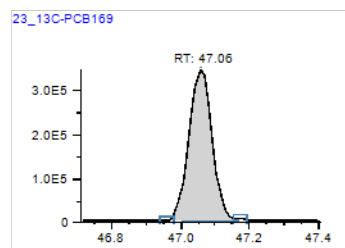
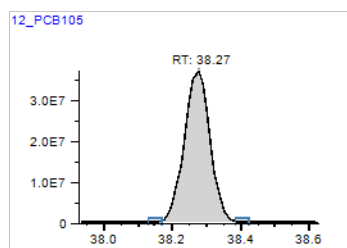
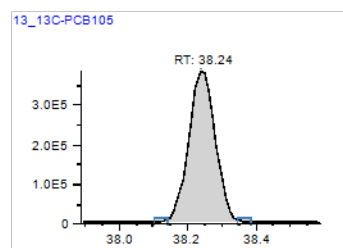


図 11 WMF-01 の SRM クロマトグラム (Co-PCBs)

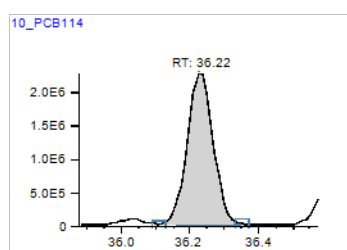
PCB 105



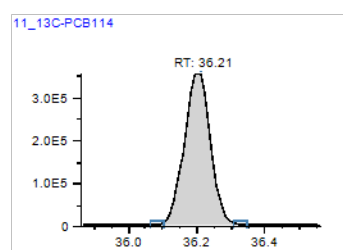
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 105



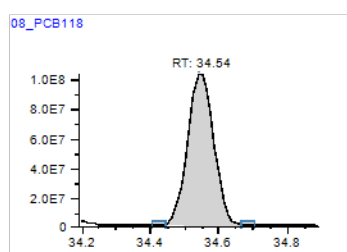
PCB 114



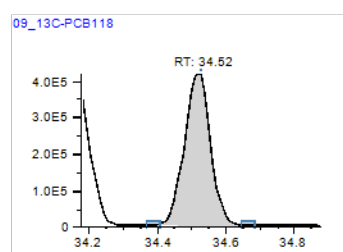
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 114



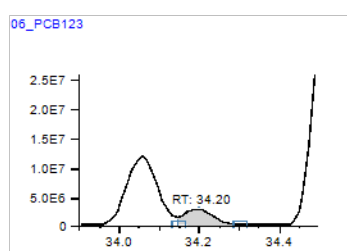
PCB 118



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 118



PCB 123



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 123

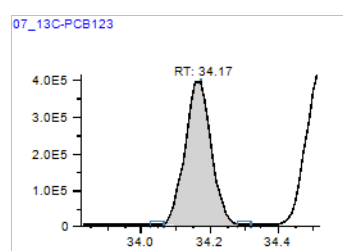
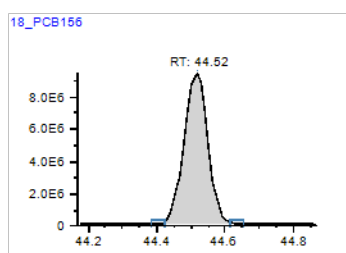
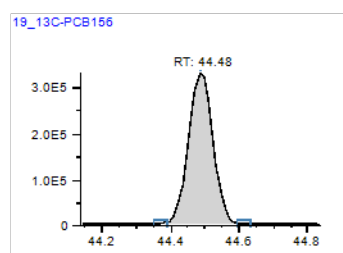


図 11 WMF-01 の SRM クロマトグラム (Co-PCBs) (つづき)

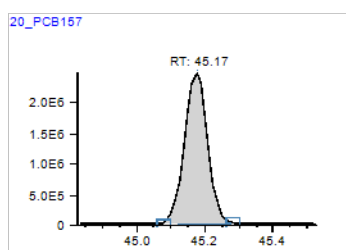
PCB 156



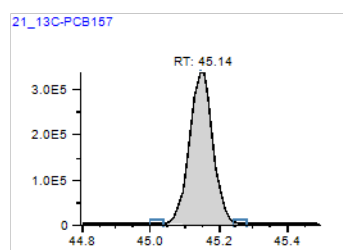
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 156



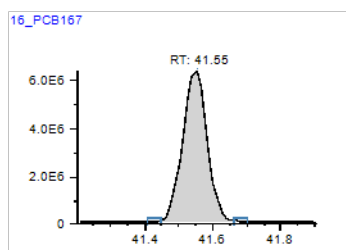
PCB 157



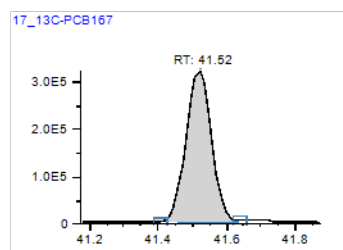
$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 157



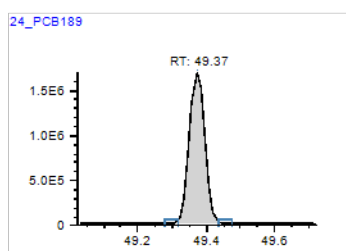
PCB 167



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 167



PCB 189



$^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 189

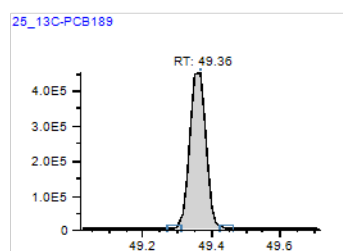


図 11 WMF-01 の SRM クロマトグラム (Co-PCBs) (つづき)

Ⅱ．分担研究年度終了報告書

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1) GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

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

研究分担者 堤 智昭

令和6年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発のための研究

分担研究年度終了報告書

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1) GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

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

研究分担者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所食品部

研究要旨

GC-MS/MSを用いた食品中のダイオキシン類分析の検討として、本年度はAPCI法を用いたGC-MS/MSによるダイオキシン類分析の測定条件を検討した。分析対象となる毒性等価係数を有するダイオキシン類(17種のPCDD/PCDFs及び12種のCo-PCBs)のSRM条件を設定した。GCカラムについては分析対象となるダイオキシン類が良好に分離可能となるよう2種類のGCカラム(BPX-DXN及びRH-12ms)を使用した。検討した測定条件により検量線作成用標準液を測定した結果、相対感度係数(RRF)の変動係数は10%以下であり、良好な結果であった。また、最低濃度の検量線作成用標準液を繰り返し測定(10回)して、試料測定時(50 g使用時)のダイオキシン類の検出下限値(LODs)及び定量下限値(LOQs)を推定した。推定したLODs及びLOQsは「食品中のダイオキシン類測定方法暫定ガイドライン」で示されている目標検出下限を満たしていた。魚試料への適用性を検討するため、GC-MS/MSを用いて認証標準試料(キングサーモン切り身の凍結乾燥物)のダイオキシン分析を実施した。ダイオキシン類の分析結果は、概ね認証値(又は参考値)の平均値 $\pm 2SD$ の範囲内に収まっていたが、一部のダイオキシン類については範囲外となった。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

足立利華、高附 巧、張 天齊、鍋師裕美

A. 研究目的

食品に含まれるダイオキシン類は極めて微量であることから二重収束型の高分解能 GC/MS (以下、高分解能 GC/MS)を用いた高感度分析が一般であり、食品中のダイオキシン類分析の暫定ガイドライン(以下、ガイドライン)¹⁾にもその使用が記載されている。しかし、高分解能 GC/MS は大型で高価な装置であることから、汎

用性が高いとは言い難い。GC-MS/MS は高分解能 GC/MS と比較すると一般的に検出感度は劣るものの、小型で廉価であるため食品中の有害化学物質の分析に汎用されている。ヨーロッパでは食品にダイオキシン類の規制値が設けられており、最近では規制値への適合判定のための分析に高分解能 GC/MS と共に、GC-MS/MS の使用が認められている²⁾。また、最近では GC-MS/MS の高感度化が進んでおり、食品中のダイオキシン類分析への利用が進みつつある^{3, 4)}。令和4年度から令和6年度にかけて、電子イオン化(EI)法を用いた GC-MS/MS による畜水産物中のダイオキシン類の分析法を検討してきた⁵⁻

⁷⁾。近年、GC-MS/MS におけるイオン化法として、一般的である EI 法に加え、大気圧化学イオン化 (APCI) 法も用いられるようになってきた。APCI 法ではフラグメンテーションが起こりにくい^{4, 8, 9)}ため、感度や選択性の高い測定が可能と考えられている。食品中のダイオキシン類分析においても APCI 法を用いた GC-MS/MS の利用が報告^{4, 8, 9)}されているが、詳細な検討についての報告は限られている。そこで、本年度は新たに APCI 法を用いた GC-MS/MS (GC-(APCI)MS/MS) によるダイオキシン類分析の基礎検討として、測定条件を検討した。

B. 研究方法

1. 試薬及び器具

本年度の分担研究報告書「(3-1-1) GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の検討」⁷⁾に従った。

2. 機器

・ホモジナイザー: レッチェ社製 GM200
・GC-MS/MS: 7890 (Agilent Technologies) / Xevo TQ-XS タンデム四重極質量分析計 (Waters 社製) with APCI source

3. GC-(APCI)MS/MS によるダイオキシン類分析

3-1. 試験溶液の調製

本年度の分担研究報告書「(3-1-1) GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の検討」⁷⁾に従った。

3-2. GC-(APCI)MS/MS 測定条件

【GC 条件】

① 2,3,7,8 - TeCDD、1,2,3,7,8 - PeCDD、1,2,3,7,8 - PeCDF、1,2,3,4,7,8 - HxCDD、1,2,3,6,7,8 - HxCDD、1,2,3,7,8,9 - HxCDD、1,2,3,4,6,7,8 - HpCDD、OCDD、2,3,7,8 - TeCDF、1,2,3,4,7,8 - HxCDF、1,2,3,6,7,8 - HxCDF、2,3,4,6,7,8 - HxCDF、1,2,3,4,6,7,8 -

HpCDF、1,2,3,4,7,8,9 - HpCDF、OCDF
カラム: BPX-DXN (内径 0.25 mm × 60 m)

注入方式: スプリットレス

注入口温度: 260°C

注入量: 1 μL

トランスファーライン温度: 320°C

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

キャリアーガス: ヘリウム (流速: 1.5 mL/分)

② 2,3,4,7,8 - 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: 1 μL

トランスファーライン温度: 320°C

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: 1.3 mL/分)

③ Co-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

トランスファーライン温度: 320°C

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: 1.3 mL/分)

【MS/MS 条件】

イオン化法: APCI(+)

イオン源温度: 150°C

コロナ電流: 2 μA

コーンガス流量: 270 L/h

AUX ガス流量: 200 L/h

メイクアップガス流量: 320 mL/min

コリジョンガス: アルゴン

測定モード: 選択的反応モニタリング (SRM)

SRM 測定における各化合物の取り込み時間:

カラム:BPX-DXN(PCDD/PCDFs)

セグメント1(19分-26分):四塩化物

セグメント2(26分-31.5分):五塩化物

セグメント3(31.5分-36.5分):六塩化物

セグメント4(36.5分-40分):七塩化物

セグメント5(40分-43.8分):八塩化物

カラム:RH-12ms(PCDD/PCDFs)

セグメント1(22分-28分):四塩化物

セグメント2(28分-33.4分):五塩化物

セグメント3(33.4分-38.3分):六塩化物

セグメント4(38.3分-43.5分):七塩化物

セグメント5(43.5分-48.5分):八塩化物

カラム:RH-12ms(Co-PCBs)

セグメント1(28分-34.7分):四塩化物

セグメント2(34.7分-42.2分):五塩化物

セグメント3(42.2分-48.5分):六塩化物

セグメント4(48.5分-51分):七塩化物

3-3. 検量線の作成

相対感度係数法により検量線を作成した。検量線用標準溶液(PCDD/PCDFsは5濃度、Co-PCBsは6濃度)に対して3回測定を実施し、PCDD/PCDFsでは計15点、Co-PCBsでは計18点の測定データを得た。検量線用標準溶液の組成と濃度を表1に示した。各測定データについて、各分析対象物質とそれに対応するクリーンアップスパイクとの相対感度係数(RRF)、及びクリーンアップスパイクとそれに対応するシリンジスパイクの相対感度係数(RRFss)を算出した。検量線作成時の測定データにおけるRRFの変動係数は10%以内、RRFssの変動係数は20%以内を目標とした。

3-4. 検出下限値及び定量下限値

最低濃度の検量線用標準溶液をGC-MS/MSにより繰り返し測定(10回)し、測定値の標準偏差(σ)を求め、 3σ を検出下限値(LOD)、 10σ を定量下限値(LOQ)とした。

3-5. 試験溶液の測定

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

C. 研究結果及び考察

1. GC-(APCI)MS/MS測定条件の検討

毒性等価係数を有する29種のダイオキシン類(17種のPCDD/PCDFs及び12種のCo-PCBs)について、既報⁹⁾を参考にモニターイオン及びコリジョンエネルギー(eV)を選択した。設定したPCDD/PCDFs測定及びCo-PCBs測定のSRM条件を表2に示した。

GCカラムについては29種のダイオキシン類を良好に分離する必要があることから、2種類のGCカラム(BPX-DXN及びRH-12ms)を用いた。17種のPCDD/PCDFsの内、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDF、については、RH-12msを用いて測定した。残りのPCDD/PCDFsについては、BPX-DXNを用いて測定した。12種のCo-PCBsについてはRH-12msを用いて測定した。GCカラムの昇温条件については既報⁷⁾を参考にした。

2. 検量線の作成(RRF及びRRFssの算出)

検量線作成用標準液を測定しRRF及びRRFssを求めた(表3)。PCDD/PCDFsのRRFは0.896~1.153(変動係数は2.8~7.0%)、RRFssは0.319~1.382(変動係数は3.5~10.1%)であった。Co-PCBsのRRFは1.004~1.111(変動係数は2.7~4.8%)、RRFssは0.506~0.920(変動係数は5.0~8.1%)であった。ガイドラインでは検量

線作成時の RRF の変動係数は 10%以内が目標とされている。今回得られた RRF の変動係数は 7.0%以下であることから、ガイドラインの目標値を満たしていた。

3. LODs 及び LOQs の推定

最も濃度が低い検量線作成用標準液 (Conc.1) の繰り返し測定 (10 回) より推定した GC-MS/MS 分析の試料測定時 (50 g 使用時) の LODs 及び LOQs を表 4 に示した。なお、試験溶液調製時の操作ブランクを考慮していないことから暫定値とした。PCDD/PCDFs の LODs は 0.001 ~ 0.004 pg/g、LOQs は 0.002 ~ 0.012 pg/g であった。Co-PCBs の LODs は 0.002 ~ 0.093 pg/g、LOQs は 0.006 ~ 0.31 pg/g であった。SRM クロマトグラム (定量イオン) の一例を図 1 及び図 2 に示した。

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

4. 認証標準試料の分析

GC-(APCI)MS/MS によるダイオキシン類分析の魚試料への適用性を検討するため、認証標準試料 (WMF-01) を分析した (表 5)。GC-(APCI)MS/MS 分析の結果、LOQs 以上の分析値が得られたダイオキシン類については概ね認証値 (又は参考値) の平均値 $\pm 2SD$ の範囲内に収まっていた。しかし、Co-PCBs である #118 の分析値は、認証値の平均値 $\pm 2SD$ の範囲外となった。明確な原因は特定できなかったが、2,3',4,4',5-PeCB (#118) の内標準物質のピーク面積値が大きくなっていたことから、分析条件の検討の余地があると考えられた。

D. 結論

GC-(APCI)MS/MS によるダイオキシン類分析の感度は良好であり、50 g の食品試料を用いればガイドラインに示されている目標検出下限を十分に達成できると考えられた。一方で、認証標準試料を分析した結果、一部のダイオキシン類の分析値に問題が認められた。今後は分析条件について再検討の余地があると考えられる。

E. 参考文献

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

- | | |
|--|--|
| <p>シン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発のための研究」分担研究報告書(GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の研究)</p> <p>6) 令和 5 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金研究報告書「食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発のための研究」分担研究報告書(GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の研究)</p> <p>7) 令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金研究報告書「食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発のための研究」分担研究報告書(GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の研究)</p> <p>8) van Bavel B, Geng D, Cherta L, Nacher-Mestre J, Portolés T, Ábalos M, Sauló J, Abad E, Dunstan J, Jones R, Kotz A, Winterhalter H, Malisch R, Traag W, Hagberg J, Ericson Jogsten I, Beltran J, Hernández F. : Atmospheric-Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry (APGC/MS/MS) an Alternative to High-Resolution Mass Spectrometry (HRGC/HRMS) for the Determination of Dioxins. Anal. Chem., 87, 9047-9053 (2015)</p> <p>9) ten Dam G, Cabreira Pussente I, Scholl G, Eppe G, Schaechtele A, van Leeuwen S. : The performance of atmospheric pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry compared to gas chromatography-high resolution mass spectrometry for the analysis of polychlorinated dioxins and polychlorinated biphenyls in food and feed samples. Journal of Chromatography A, 1477, 76-90 (2016)</p> | <p>F.研究業績</p> <p>1. 論文発表
なし</p> <p>2. 学会発表
なし</p> |
|--|--|

表1 検量線用標準溶液の組成と濃度

表1-1) PCDD/PCDFs

化合物			濃度 (ng/mL)				
			Conc.1	Conc.2	Conc.3	Conc.4	Conc.5
分析対象物質	PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	0.01	0.05	0.2	1	5
		1,2,3,7,8-PeCDD	0.01	0.05	0.2	1	5
		1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.02	0.1	0.4	2	10
		OCDD	0.05	0.25	1	5	25
	PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	0.01	0.05	0.2	1	5
		1,2,3,7,8-PeCDF	0.01	0.05	0.2	1	5
		2,3,4,7,8-PeCDF	0.01	0.05	0.2	1	5
		1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.02	0.1	0.4	2	10
		OCDF	0.05	0.25	1	5	25
内標準物質 (クリーンアップ スパイク)	PCDDs	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDD	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -OCDD	4	4	4	4	4
	PCDFs	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDF	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HxCDF	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2	2	2	2	2
		¹³ C ₁₂ -OCDF	4	4	4	4	4
内標準物質 (シリジンスパイク)		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TeCDD	2	2	2	2	2

表1-2) Co-PCBs

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

表 2 ダイオキシン類測定のための SRM 条件

表2-1)PCDD/PCDFs

化合物			定量イオン		定性イオン	
			SRM transition (<i>m/z</i>)	CE (eV)	SRM transition (<i>m/z</i>)	CE (eV)
分析対象物質	PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	319.9 > 256.9	29	321.9 > 258.9	29
		1,2,3,7,8-PeCDD	355.9 > 292.9	31	353.9 > 290.9	31
		1,2,3,4,7,8-HxCDD	389.8 > 326.9	32	391.8 > 328.8	32
		1,2,3,6,7,8-HxCDD				
		1,2,3,7,8,9-HxCDD				
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	423.8 > 360.8	32	425.8 > 362.8	32
		OCDD	457.7 > 394.8	32	459.7 > 396.8	32
	PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	303.9 > 240.9	37	305.9 > 242.9	37
		1,2,3,7,8-PeCDF	339.9 > 276.9	39	337.9 > 274.9	39
		2,3,4,7,8-PeCDF				
		1,2,3,4,7,8-HxCDF				
		1,2,3,6,7,8-HxCDF	373.8 > 310.9 (373.8 > 310.9)*	39	375.8 > 312.9 (371.8 > 308.9)	39
		1,2,3,7,8,9-HxCDF				
		2,3,4,6,7,8-HxCDF				
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	407.8 > 344.8	39	409.8 > 346.8	39
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	441.7 > 378.8	40	443.7 > 380.8	40
		OCDF				
内標準物質 (クリーンアップ スパイク)	PCDDs	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDD	331.9 > 268.0	29	333.9 > 270.0	29
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD	367.9 > 303.9	31	365.9 > 301.9	31
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	401.9 > 337.9	32	403.9 > 339.9	32
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD				
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD				
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	435.8 > 371.8	32	437.8 > 373.8	32
		¹³ C ₁₂ -OCDD	469.8 > 405.8	32	471.8 > 407.8	32
	PCDFs	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeCDF	315.9 > 252.0	37	317.9 > 254.0	37
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF	351.9 > 287.9	39	349.9 > 285.9	39
		¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF				
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF				
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	385.9 > 321.9	39	383.9 > 319.9	39
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF				
		¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HxCDF				
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	419.8 > 355.9	39	421.8 > 357.9	39
		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF				
		¹³ C ₁₂ -OCDF	453.8 > 389.8	40	455.8 > 391.8	40
内標準物質 (シリジススパイク)		¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TeCDD	331.9 > 268.0	29	333.9 > 270.0	29

* RH-12ms測定時のモニターイオン

表2-2) Co-PCBs

化合物			定量イオン		定性イオン	
			SRM transition (<i>m/z</i>)	CE (eV)	SRM transition (<i>m/z</i>)	CE (eV)
分析対象物質	ノンオルト PCBs	3,3',4,4'-TCB (#77)	289.9 > 219.9	34	291.9 > 221.9	34
		3,4,4',5-TCB (#81)				
		3,3',4,4',5-PeCB (#126)	323.9 > 253.9	34	325.9 > 255.9	34
		3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	359.9 > 289.9	36	357.9 > 287.9	36
	モノオルト PCBs	2,3,3',4,4'-PeCB (#105)				
		2,3,4,4',5-PeCB (#114)	323.9 > 253.9	34	325.9 > 255.9	34
		2,3',4,4',5-PeCB (#118)				
		2',3,4,4',5-PeCB (#123)				
		2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)				
		2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	359.9 > 289.9	36	357.9 > 287.9	36
		2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)				
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	393.9 > 323.9	39	395.8 > 325.9	39
内標準物質 (クリーンアップ スパイク)	ノンオルト PCBs	¹³ C ₁₂ -3,3',4,4'-TCB (#77)	301.9 > 231.9	34	303.9 > 233.9	34
		¹³ C ₁₂ -3,4,4',5-TCB (#81)				
		¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5-PeCB (#126)	335.9 > 265.9	34	337.9 > 267.9	34
		¹³ C ₁₂ -3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	371.9 > 301.9	36	369.9 > 299.9	36
	モノオルト PCBs	¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4'-PeCB (#105)				
		¹³ C ₁₂ -2,3,4,4',5-PeCB (#114)	335.9 > 265.9	34	337.9 > 267.9	34
		¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5-PeCB (#118)				
		¹³ C ₁₂ -2',3,4,4',5-PeCB (#123)				
		¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)				
		¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	371.9 > 301.9	36	369.9 > 299.9	36
		¹³ C ₁₂ -2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)				
		¹³ C ₁₂ -2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	405.9 > 335.9	39	407.8 > 337.9	39
内標準物質 (シリジンスパイク)		¹³ C ₁₂ -3,3',4,5'-TCB (#79)	301.9 > 231.9	34	303.9 > 233.9	34

表 3 検量線用標準溶液の RRF 及び RRF_{ss}

表3-1) PCDD/PCDFs

PCDD/PCDFs		RRF 平均値	RRF変動係数 (%)	RRF _{ss} 平均値	RRF _{ss} 変動係数 (%)
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	1.070	6.0	1.225	4.5
	1,2,3,7,8-PeCDD	1.056	4.2	1.081	4.1
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.896	2.8	0.915	3.5
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.988	4.8	0.885	5.3
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.965	3.5	0.858	4.7
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1.107	2.9	0.581	4.4
	OCDD	1.086	3.2	0.330	4.5
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	1.015	4.6	1.382	5.5
	1,2,3,7,8-PeCDF	1.153	5.2	1.127	4.3
	2,3,4,7,8-PeCDF ¹⁾	1.092	7.0	1.166	6.0
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.048	5.3	0.870	3.8
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.022	4.7	0.903	5.1
	1,2,3,7,8,9-HxCDF ¹⁾	0.983	5.1	1.010	5.1
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.950	4.4	0.976	4.2
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.052	4.4	0.698	6.6
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.014	6.5	0.438	10.1
	OCDF	1.019	4.9	0.319	4.6

1) RH-12ms測定データ

表3-2) Co-PCBs

Co-PCBs		RRF 平均値	RRF変動係数 (%)	RRF _{ss} 平均値	RRF _{ss} 変動係数 (%)
ノンオルト PCBs	3,3',4,4'-TeCB(#77)	1.111	3.7	0.920	7.2
	3,4,4',5'-TeCB(#81)	1.092	3.3	0.910	8.0
	3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	1.092	3.9	0.636	7.8
	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	1.045	3.6	0.576	5.2
モノオルト PCBs	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	1.040	2.7	0.740	8.1
	2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	1.040	3.3	0.691	7.0
	2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	1.065	3.7	0.692	7.8
	2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	1.026	2.8	0.742	6.8
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	1.024	3.5	0.637	5.6
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	1.013	3.0	0.684	5.0
	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	1.086	4.8	0.631	5.2
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	1.004	4.3	0.506	7.9

表 4 試料測定時の LODs 及び LOQs

表4-1) PCDD/PCDFs

PCDD/PCDFs		LODs ¹⁾ (pg/g)	LOQs ¹⁾ (pg/g)	目標検出下限 ²⁾ (pg/g)
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	0.001	0.002	0.01
	1,2,3,7,8-PeCDD	0.001	0.003	0.01
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.001	0.003	0.02
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.002	0.008	0.02
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.002	0.006	0.02
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.002	0.006	0.02
	OCDD	0.004	0.012	0.05
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	0.001	0.002	0.01
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.001	0.003	0.01
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.001	0.004	0.01
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.001	0.004	0.02
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.001	0.004	0.02
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.002	0.007	0.02
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.001	0.004	0.02
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.002	0.005	0.02
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.002	0.007	0.02
	OCDF	0.003	0.011	0.05

1)食品試料50 g使用時

2)食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン(平成20年2月)

表4-2) Co-PCBs

Co-PCBs		LODs ¹⁾ (pg/g)	LOQs ¹⁾ (pg/g)	目標検出下限 ²⁾ (pg/g)
ノンオルト PCBs	3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.002	0.008	0.1
	3,4,4',5'-TeCB(#81)	0.002	0.006	0.1
	3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.002	0.007	0.1
	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.002	0.007	0.1
モノオルト PCBs	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	0.04	0.13	1
	2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	0.02	0.08	1
	2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	0.05	0.17	1
	2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	0.04	0.13	1
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	0.04	0.14	1
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	0.03	0.11	1
	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	0.04	0.13	1
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	0.09	0.31	1

1)食品試料50 g使用時

2)食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン(平成20年2月)

表 5 認証標準試料(WMF-01)の分析結果

ダイオキシン類	認証値(参考値) pg/g	GC-(APCI)MS/MS pg/g
2,3,7,8-TeCDD	13.1 ± 4.4	14
1,2,3,7,8-PeCDD	2.72 ± 1.3	2.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.22 * ¹⁾ ± 0.3	0.13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.88 ± 0.4	0.93
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.27 * ± 0.4	0.074
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.59 * ± 0.7	0.21
OCDD	3.91 * ± 6.2	0.61
2,3,7,8-TeCDF	13.1 ± 4.9	14
1,2,3,7,8-PeCDF	1.53 * ± 1.4	0.96
2,3,4,7,8-PeCDF	7.15 ± 2.2	7.2
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.86 * ± 1.0	0.54
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.51 * ± 0.7	0.27
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.25 * ± 0.4	- 2)
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.68 * ± 1.2	0.25
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.01 * ± 1.9	0.12
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.30 * ± 0.5	-
OCDF	1.38 * ± 2.1	tr ³⁾
3,3',4,4'-TeCB(#77)	2,233 ± 720	1,832
3,4,4',5-TeCB(#81)	201 ± 58	200
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	739 ± 260	757
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	76 ± 30	73
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	49,050 ± 14,200	46,083
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	3,523 ± 1,670	4,093
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	130,100 ± 32,500	27,674
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	4,233 ± 2,620	4,138
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	14,890 ± 5,020	16,136
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	3,488 ± 870	4,337
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	9,750 ± 3,090	10,785
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	2,016 ± 611	2,309

1) * は参考値

2) LODs未満

3) tr: trace (LOD ≤ tr < LOQ)

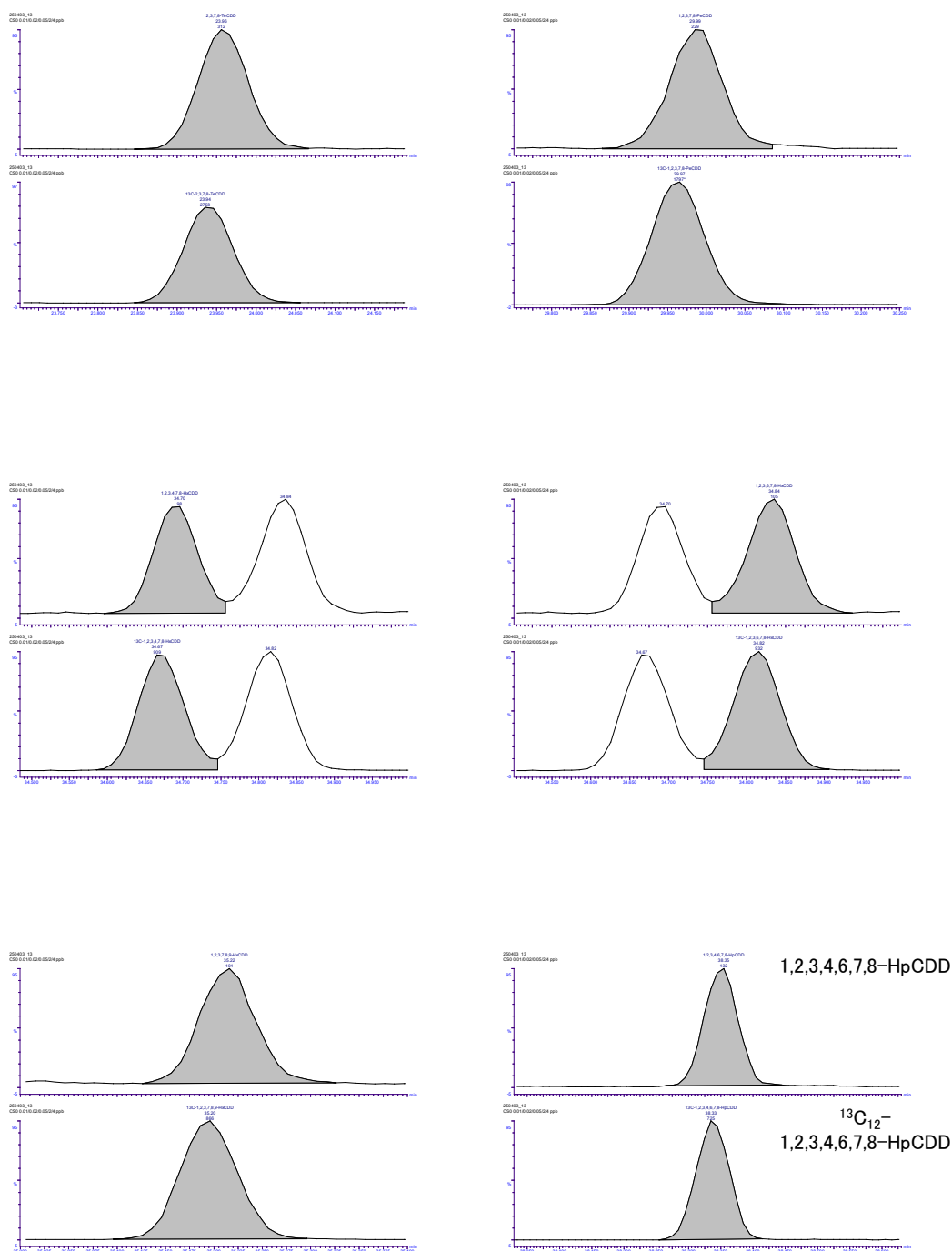


図 1 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (PCDD/PCDFs)

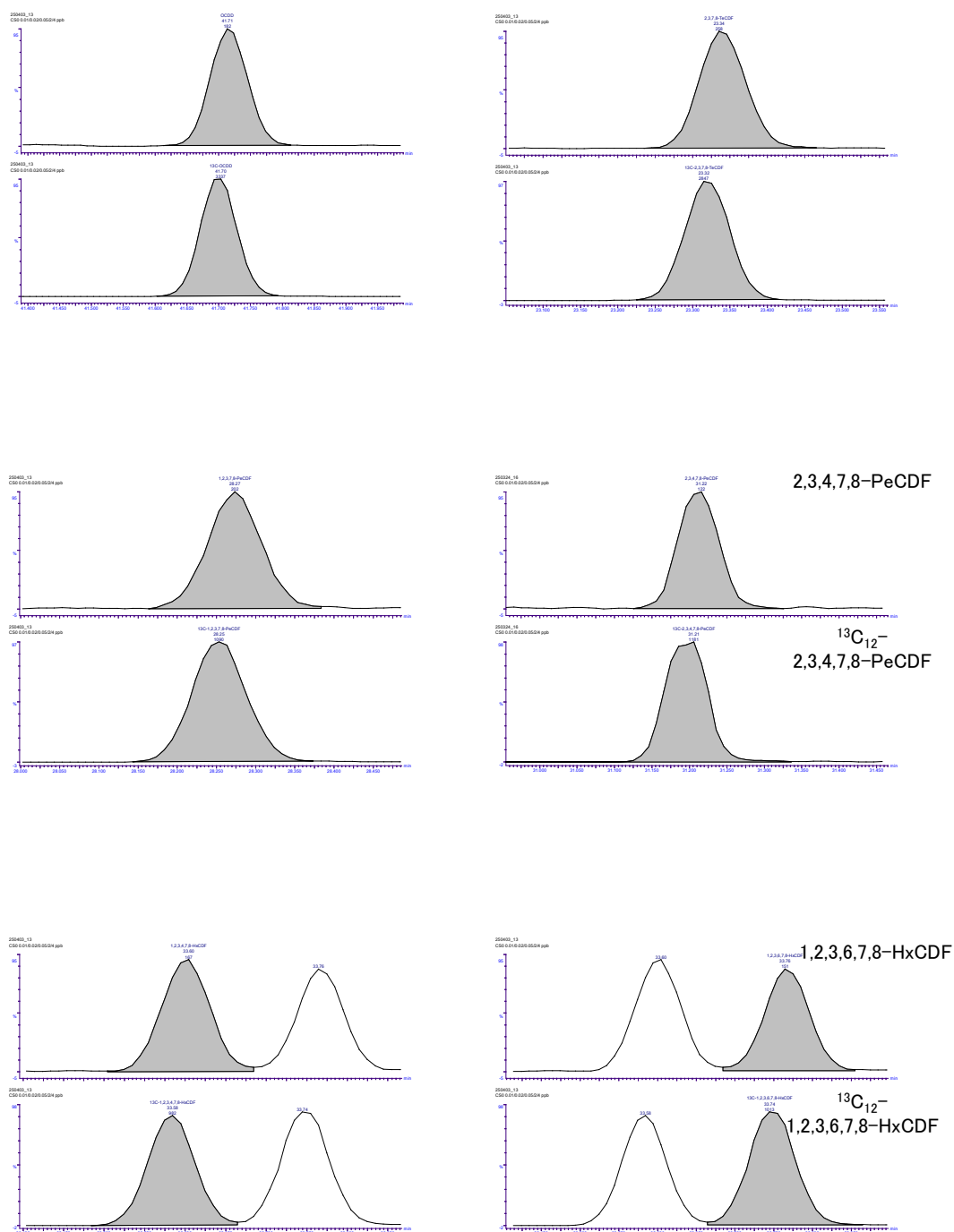


図 1 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (PCDD/PCDFs) (つづき)

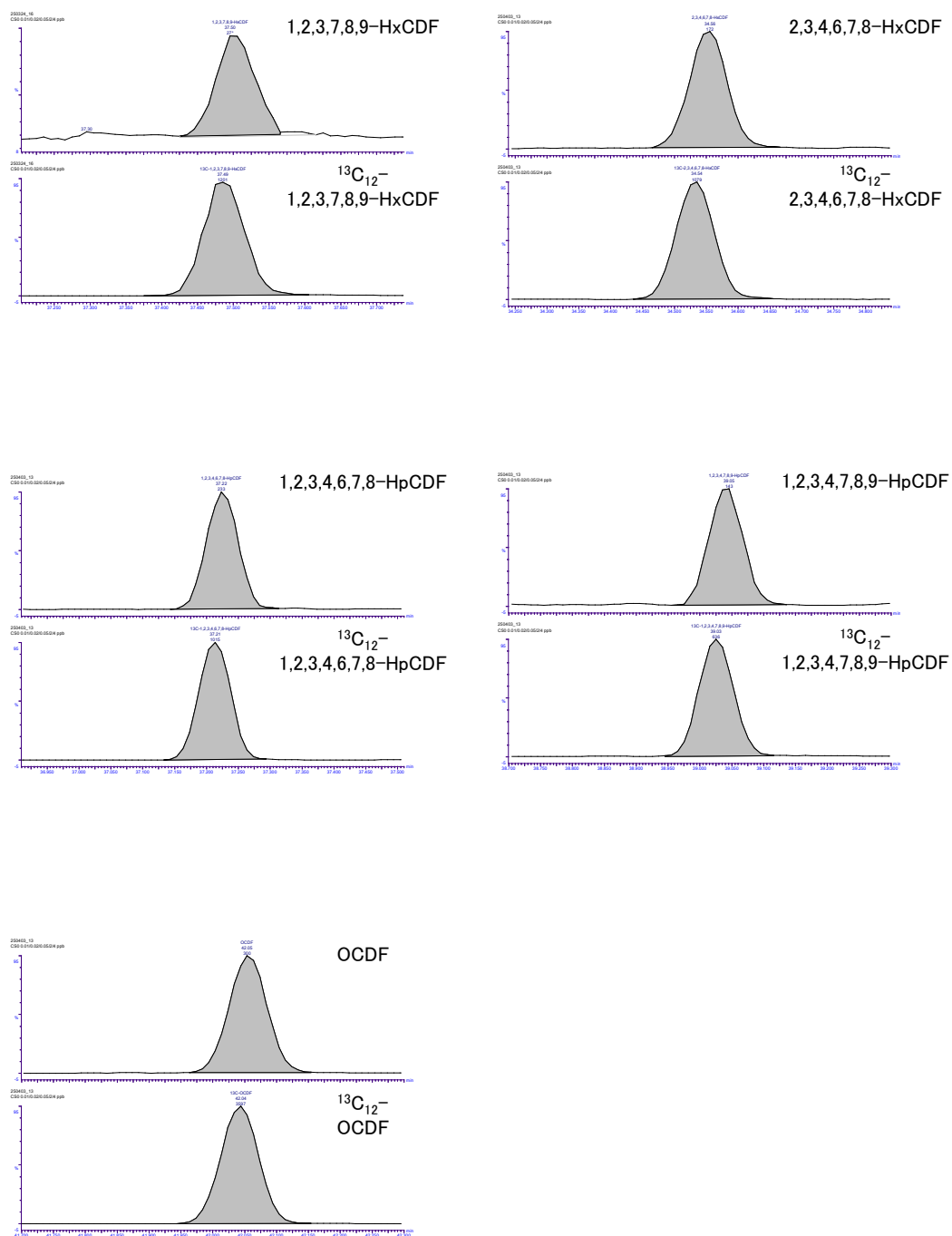


図 1 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (PCDD/PCDFs) (つづき)

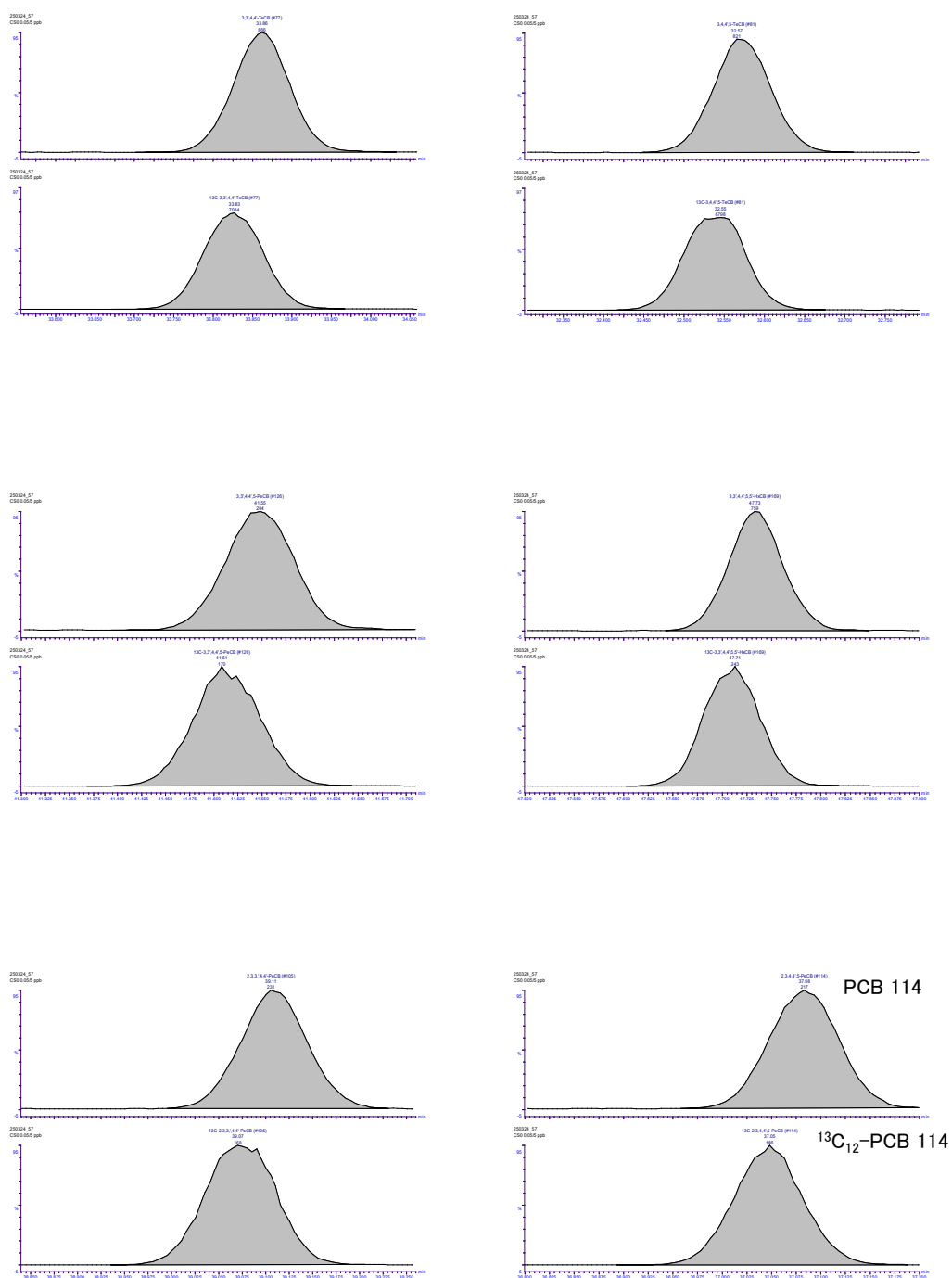


図 2 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (Co-PCBs)

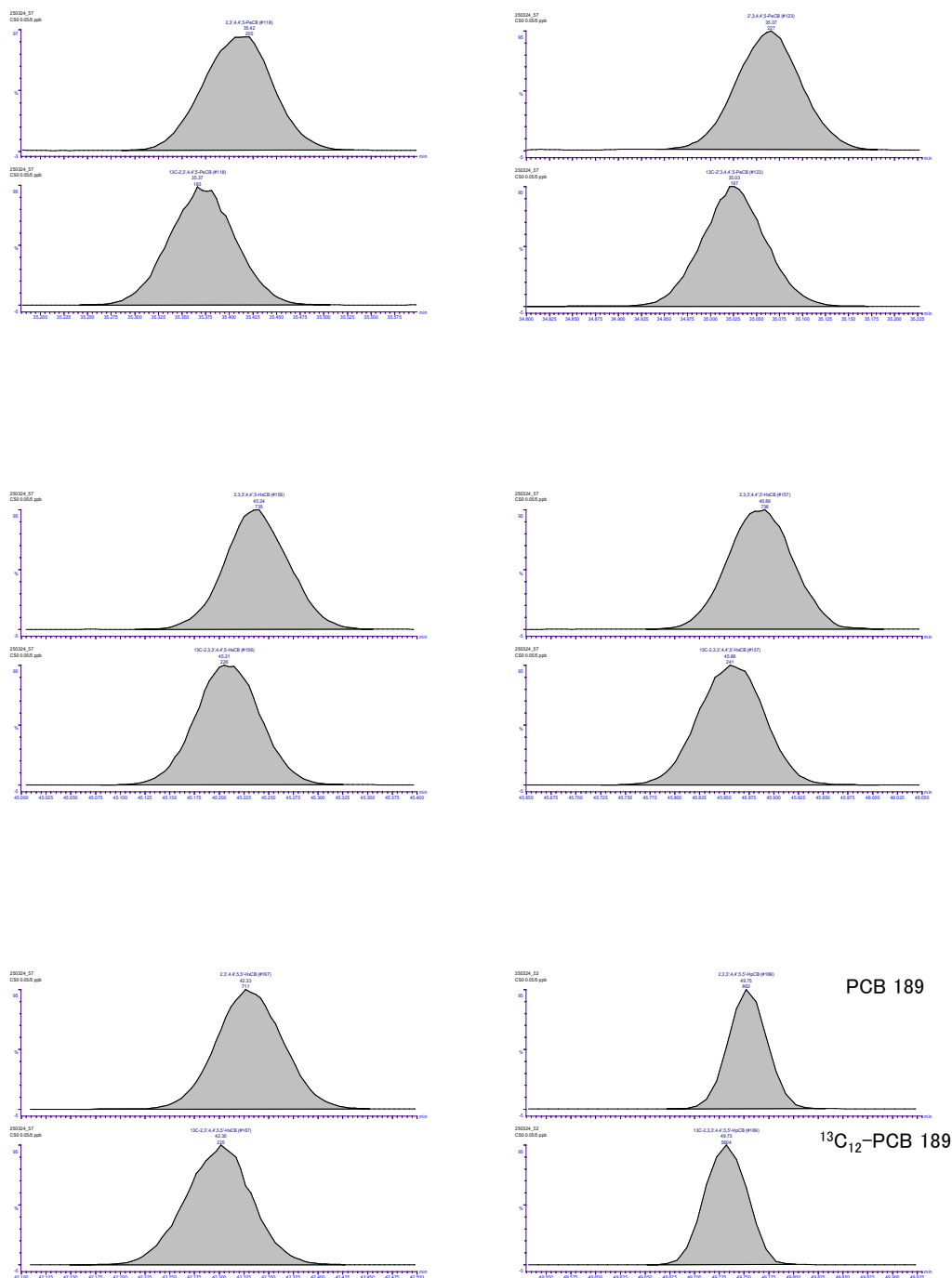


図 2 検量線用標準溶液 (Conc.1) の SRM クロマトグラム (Co-PCBs) (つづき)

Ⅱ．分担研究年度終了報告書

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-2) LC-MS/MS による食品中のベンゾトリアゾール系

紫外線吸収剤の分析法の検討

研究分担者 堤 智昭

令和6年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発のための研究

分担研究年度終了報告書

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

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

研究分担者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所食品部

研究要旨

ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤(BT)は、有毒性、難分解性、蓄積性及び長距離移動性を有し、健康への影響が懸念されている。近年、新たに国際条約(POPs条約)の規制対象物質への追加が採択されたBTもあり、わが国においても、当該BTを第一種特定化学物質として指定する旨の政令が施行された。そこで、本研究では、食品中のBTのリスク管理の必要性を検討することを目的として、食品中のBTの汚染実態や摂取量推定に必要となる分析法の開発を進めている。前年度はLC-MS/MSを用いたBT分析法の前処理法を検討し、魚試料4種を対象とした添加回収試験を実施した。本年度は開発した分析法の適用性を検証するため、貝試料を含む他の魚介類試料及びトータルダイエツト試料のうち第10群(魚介類)試料を対象とした添加回収試験を実施した。前年度同様、試料をメタノールで抽出し、*n*-ヘキサンと2 w/v%塩化ナトリウム溶液を加えて液-液分配した後、5%含水シリカゲルカラムとフロリジルミニカラムで精製した。測定条件として分析カラムにODSカラムを、移動相に蒸留水、メタノール及び5 mMギ酸アンモニウム溶液を用いたステップワイズ法で、イオン化はESIのポジティブモードを用いた。魚介類試料7食品を対象とした添加回収試験を行った結果、9種のBTで良好な真度(72.9%~119.4%)と併行精度(<12.2%)が認められた。第10群(魚介類)試料を対象とした添加回収試験では、8種のBTで良好な真度(77.7%~117.1%)が認められた。本法による試料中の定量限界値は0.4 ng/gであった。また、添加回収試験にて良好な結果を得られたBTについて、魚介類試料及び第10群(魚介類)試料中の含量を測定した結果は、カキ試料にUV-328 (0.6 ng/g)の検出が確認された。その他、すべて定量限界値未満であった。

研究協力者

埼玉県衛生研究所

中代智菜美、今井 浩一

2023年5月には2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4,6-ジ-*tert*-ペンチルフェノール(UV-328)が生物や環境に悪影響を与える懸念があるとして、国際条約(POPs条約)の規制対象物質への追加が採択された¹⁾。わが国においても、2025年2月に化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)において第一種特定化学物質として指定する旨の政令が施行された²⁾。

わが国ではUV-328以外にも、2-(2H-1,2,3-

A. 研究目的

紫外線吸収剤は、紫外線による劣化を防ぐ目的として塗料やプラスチック製品等に使用されている。特に、ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤(BT)は、紫外線吸収能力が優れており、世界的に広く使用されている。

ベンゾトリアゾール-2-イル)-4,6-ジ-*tert*-ブチルフェノール(UV-320)が難分解性、高蓄積性及び長期毒性があるとして、化審法の第1種特定化学物質に指定され、その製造、輸入及び使用が原則禁止されている³⁾。また、2,4-ジ-*tert*-ブチル-6-(5-クロロ-2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)フェノール(UV-327)及び2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-6-(ブタン-2-イル)-4-*tert*-ブチルフェノール(UV350)が同法の監視化学物質に指定され、製造、輸入数量及び用途を毎年届け出る義務が生じている⁴⁾。UV-328、UV-320、UV-327 及び UV-350 以外の BT は、これら 4 化合物に類似した化学構造を有するにもかかわらず、使用や製造に関しての規制はない。

BT の毒性について、UV-320 が PPAR α シグナルを介して肝毒性を誘発することが報告されている⁵⁾。未規制の BT についても、類似した物理化学的な性質を有し、同様の毒性を持つ可能性があり、河川水、海水や食品、特に魚介類の汚染が懸念されている。さらに、ヒト母乳中から BT を検出したという報告もあり^{6), 7)}、食品中からの暴露も懸念されるが、BT によるヒトへの健康影響評価や汚染実態についての詳細は、まだ解明されていない。

有害物質の摂取量低減の施策等によるリスク管理を検討するためには、実態調査や摂取量推定は欠かせない。河川水及び底質の BT 汚染実態については多数報告されているが^{8) ~ 13)}、魚介類の BT 汚染実態については報告が少ない^{14) ~ 18)}。また、これらの報告では UV-320、UV-327 及び UV-328 を主として 4 化合物程度を分析対象としている場合が多く、多数ある BT を網羅していない。

本研究では魚介類等の食品中の BT のリスク管理の必要性を検討することを目的として、魚介類を対象とした LC-MS/MS を用いた BT 分析法について検討する。本年度は分析法の適用性を検証するため、貝試料を含む他の魚介類試料及びトータルダイエツト(TD)試料のうち第 10 群(魚介

類)試料を対象とした添加回収試験を実施するとともに、試料中の含量を測定した。

B. 研究方法

1. 分析対象化合物

本検討では、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4-メチルフェノール(UV-P)、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4-*tert*-ブチルフェノール(UV-PS)、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4-メチル-6-(プロパ-2-エン-1-イル)フェノール(UV-9)、2-[3-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4-ヒドロキシフェニル]エチル 2-メチルプロパ-2-エノアト(UV-090)、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4,6-ビス(2-フェニルプロパン-2-イル)フェノール(UV-234)、UV-320、2-(*tert*-ブチル)-4-メチル-6-(5-クロロ-2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)フェノール(UV-326)、UV-327、UV-328、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4-*tert*-オクチルフェノール(UV-329)、UV-350、2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-6-{[3-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-2-ヒドロキシ-5-(2,4,4-トリメチルペンタン-2-イル)フェニル]メチル}-4-(2,4,4-トリメチルペンタン-2-イル)フェノール(UV-360)及び2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-6-(2-フェニルプロパン-2-イル)-4-(2,4,4-トリメチルペンタン-2-イル)フェノール(UV-928)の全 13 化合物(図 1)を分析対象とした。

2. 試薬

1) 標準品

UV-P:純度 100.0%(AccuStandard 製)

UV-PS:純度 100.0%(AccuStandard 製)

UV-9:純度 100.0%(AccuStandard 製)

UV-090:純度 99.79%(Toronto Research Chemicals 製)

UV-234:純度 99.9%(AccuStandard 製)

UV-320:純度 100.0%(AccuStandard 製)

UV-326:純度 100.0%(富士フィルム和光純薬製)

UV-327:純度 100.0%(AccuStandard 製)
UV-328:純度 98.0%(AccuStandard 製)
UV-329:純度 98.0%(AccuStandard 製)
UV-350:純度 97.52%(Toronto Research Chemicals 製)
UV-360:純度 98%(Toronto Research Chemicals 製)
UV-928:純度 98%(BLD pharm 製)
UV-P d_3 :純度 99.6%(林純薬工業製)
UV-PS d_4 :純度 99.7%(ASCA GmbH 製)
UV-234 d_4 :純度 99.7%(ASCA GmbH 製)
UV-320 d_4 :純度 99.8%(ASCA GmbH 製)
UV-326 d_3 :純度 98.9%(林純薬工業製)
UV-327 d_3 :純度 99.8%(ASCA GmbH 製)
UV-328 d_4 :純度 99.8%(ASCA GmbH 製)
UV-329 d_4 :純度 98.0%(ASCA GmbH 製)
UV-350 d_4 :純度 99.4%(ASCA GmbH 製)
UV-928 d_4 :純度 98.9%(ASCA GmbH 製)

2) その他試薬

アセトン:残留農薬試験・PCB 試験用(関東化学製)

n -ヘキサン:残留農薬試験・PCB 試験用(関東化学製)

酢酸エチル:残留農薬試験・PCB 試験用(関東化学製)

塩化ナトリウム:試薬特級(富士フィルム和光純薬製)

5%含水シリカゲル:環境分析用(富士フィルム和光純薬製)

フロリジルミニカラム:InertSep FL-PR 2 g/12 mL (GL Sciences 製)

メタノール:HPLC 用(関東化学製)

蒸留水:HPLC 用(関東化学製)

ギ酸アンモニウム:特級(富士フィルム和光純薬製)

3. 標準原液・標準溶液の調製

UV-360 以外の標準原液:各標準品 20 mg を精秤し、アセトンで溶解して 1000 mg/L 溶液を調製

した。

UV-360 標準原液:標準品 20 mg を精秤し、アセトンで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。

安定同位体標識化合物標準原液:各標準品 2.5 mg～5 mg を精秤し、アセトンで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。

検量線用混合標準溶液:各標準原液をメタノールで適宜希釈し、0.02 $\mu\text{g/L}$ ～1 $\mu\text{g/L}$ の混合標準溶液を調製した。この混合標準溶液には、定容前に内標準物質として安定同位体標識化合物を 0.4 $\mu\text{g/L}$ となるように添加して調製した。

添加用混合標準溶液:各標準原液をメタノールで適宜希釈して、20 $\mu\text{g/L}$ 混合標準溶液を調製した。

添加回収試験用混合標準溶液:各標準原液をメタノールで適宜希釈して、2 $\mu\text{g/L}$ 混合標準溶液を調製した。この混合標準溶液には、定容前に内標準物質として安定同位体標識化合物を 20 $\mu\text{g/L}$ となるように添加して調製した。

安定同位体標識化合物混合標準溶液:各安定同位体標識化合物標準原液をメタノールで適宜希釈して 20 $\mu\text{g/L}$ 混合溶液を調製した。

4. 試料

魚介類試料は、関東地区のスーパーマーケットで購入した。

試料のうち魚試料は筋肉部を採取し、貝試料、頭足類及びエビは軟組織を採取して細切均一化した。詳細は表 1 の通りである。

また、今年度に埼玉県衛生研究所にて調製した TD 試料のうち第 10 群(魚介類)試料 3 種(X-1、X-2 及び X-3)を使用した。TD 試料 - 第 10 群(魚介類)試料の調製については、食品分類表の小分類ごとに、1 日摂取量の 15 倍を分別量とした。X-1、X-2 及び X-3 では可能な限りそれぞれ異なる食品を調達し、困難な場合は産地の異なるものを調達した。なお、小分類の中で 2 食品を調達可能な場合は、その分別量を任意の重量に分割し、各分別量とした。それぞれの食品の各分別量を秤取し、調理が必要

な食品については調理を行い、調理後重量を記録して混合し、TD 試料 - 第 10 群試料 (X-1、X-2 及び X-3) とした。詳細は表 2-1～表 2-3 の通りである。

5. 機器

LC: ACQUITY Premier (Waters 製)

MS/MS: Xevo TQ-XS (Waters 製)

データ処理: MassLynx Ver.4.2 (Waters 製)

6. LC-MS/MS 測定

1) LC 条件

カラム: UHPLC PEEK Column InertSustain C18 (GL Sciences 製)

(内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μ m)

移動相流速: 0.2 mL/min

注入量: 5 μ L

カラム温度: 40°C

移動相:

A 液: 蒸留水

B 液: メタノール

C 液: 5 mM ギ酸アンモニウム溶液

時間 (分)	A (%)	B (%)	C (%)
0	9	90	1
27.0	9	90	1
27.1	0	99	1
60.0	0	99	1
60.1	9	90	1
67.0	9	90	1

測定時間: 67 分

2) MS 条件

測定モード: 選択反応モニタリング (SRM)

イオン化法: ESI (+)

キャピラリー電圧: 3.0 kV

イオン源温度: 150°C

脱溶媒温度: 500°C

コーンガス: 窒素 150 L/hr

脱溶媒ガス: 窒素 1000 L/hr

コリジョンガス: アルゴン 0.15 mL/min

定量イオン及び定性イオン:

UV-P : m/z 226 $\rightarrow$ 120 [30 V/15 eV]

m/z 226 $\rightarrow$ 107 [30 V/20 eV]

UV-PS : m/z 268 $\rightarrow$ 212 [40 V/20 eV]

m/z 268 $\rightarrow$ 57 [40 V/25 eV]

UV-9 : m/z 266 $\rightarrow$ 119 [40 V/20 eV]

m/z 266 $\rightarrow$ 91 [40 V/30 eV]

UV-090 : m/z 324 $\rightarrow$ 238 [30 V/15 eV]

m/z 324 $\rightarrow$ 91 [30 V/30 eV]

UV-234 : m/z 448 $\rightarrow$ 119 [40 V/30 eV]

m/z 448 $\rightarrow$ 370 [40 V/20 eV]

UV-320 : m/z 324 $\rightarrow$ 268 [30 V/20 eV]

m/z 324 $\rightarrow$ 212 [30 V/25 eV]

UV-326 : m/z 316 $\rightarrow$ 260 [30 V/20 eV]

m/z 318 $\rightarrow$ 262 [30 V/20 eV]

UV-327 : m/z 358 $\rightarrow$ 302 [40 V/20 eV]

m/z 360 $\rightarrow$ 304 [40 V/20 eV]

UV-328 : m/z 352 $\rightarrow$ 282 [30 V/20 eV]

m/z 352 $\rightarrow$ 71 [30 V/25 eV]

UV-329 : m/z 324 $\rightarrow$ 212 [30 V/25 eV]

m/z 324 $\rightarrow$ 57 [30 V/25 eV]

UV-350 : m/z 324 $\rightarrow$ 268 [30 V/20 eV]

m/z 324 $\rightarrow$ 212 [30 V/25 eV]

UV-360 : m/z 659 $\rightarrow$ 336 [30 V/20 eV]

m/z 659 $\rightarrow$ 224 [30 V/30 eV]

UV-928 : m/z 442 $\rightarrow$ 364 [30 V/25 eV]

m/z 442 $\rightarrow$ 252 [30 V/30 eV]

UV-P d_3 : m/z 229 $\rightarrow$ 120 [30 V/15 eV]

m/z 229 $\rightarrow$ 110 [30 V/20 eV]

UV-PS d_4 : m/z 272 $\rightarrow$ 216 [40 V/20 eV]

m/z 272 $\rightarrow$ 57 [40 V/25 eV]

UV-234 d_4 : m/z 452 $\rightarrow$ 374 [40 V/20 eV]

m/z 452 $\rightarrow$ 119 [40 V/30 eV]

UV-320 d_4 : m/z 328 $\rightarrow$ 272 [30 V/20 eV]

m/z 328 $\rightarrow$ 216 [30 V/25 eV]

UV-326 d_3 : m/z 319 $\rightarrow$ 263 [30 V/20 eV]

m/z 321 $\rightarrow$ 265 [30 V/20 eV]

UV-327 d_3 : m/z 361 $\rightarrow$ 305 [40 V/20 eV]

m/z 363 $\rightarrow$ 307 [40 V/20 eV]

UV-328 d_4 : m/z 356 $\rightarrow$ 286 [30 V/20 eV]

m/z 356→71 [30 V/25 eV]
 UV-329 d_4 : m/z 328→216 [30 V/25 eV]
 m/z 328→57 [30 V/25 eV]
 UV-350 d_4 : m/z 328→272 [30 V/20 eV]
 m/z 328→216 [30 V/25 eV]
 UV-928 d_4 : m/z 446→368 [30 V/25 eV]
 m/z 446→256 [30 V/30 eV]
 上段: 定量イオン 下段: 定性イオン
 [コーン電圧/コリジョンエネルギー]

7. 検量線及び定量

検量線用混合標準系列は BT の濃度が 0.02 µg/L、0.04 µg/L、0.2 µg/L、0.4 µg/L 及び 1 µg/L、安定同位体標識化合物の濃度がそれぞれ 0.4 µg/L となるように標準原液をメタノールで希釈して調製した。安定同位体標識化合物を用いた内部標準法により検量線を作成した。なお、安定同位体標識化合物を入手できなかった UV-9、UV-090 及び UV-360 については、各保持時間や Log Pow が近似している UV-PS、UV-P 及び UV-328 でそれぞれ補正した。作成した検量線の相関係数が、0.995 以上であることを確認し、試験溶液中の BT の定量を行った。

8. 試験溶液の調製

1) 抽出

均一化した試料 5.0 g を遠心管に量り採り、安定同位体標識化合物がそれぞれ 4 ng/g となるように安定同位体標識化合物混合標準溶液を添加した。30 分間室温で放置したのち、メタノール 30 mL を加えてホモジナイズした後、毎分 3,500 回転で 5 分間遠心分離し、上清を分取した。残留物にメタノール 30 mL を加えて同様に操作し、得られた上清を合わせ、メタノールを加えて正確に 100 mL とした。この溶液から正確に 20 mL を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去した。これに *n*-ヘキサン 30 mL 及び 2 w/v% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加えて振とう抽出した後、*n*-ヘキサン層を分取した。残留物に *n*-ヘキサン 30 mL を加えて同様に操作し、*n*-ヘキサン層を合わせ、

無水硫酸ナトリウム 2 g を加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、40℃以下で約 1 mL まで濃縮した。この残留物に *n*-ヘキサン 1 mL を加えて溶解した。

2) 精製

① 5%含水シリカゲルカラム

コック付きの長さ 30 cm、内径 10 mm のガラスカラムに 5%含水シリカゲル 5 g を *n*-ヘキサンを用いて湿式充填し、上部に無水硫酸ナトリウム 1 g を積層した。このカラムに、*n*-ヘキサン 40 mL を注入し、流出液は捨てた。これに、1) で得られた溶液を注入した後、10 vol% 酢酸エチル含有 *n*-ヘキサン 100 mL で溶出させた。負荷液及び溶出液を合わせて 40℃以下で約 1 mL まで濃縮した。この残留物に *n*-ヘキサン 1 mL を加えて溶解した。

② フロリジルミニカラム

InertSep FL-PR (2 g/12 mL) に *n*-ヘキサン 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに 2) ① で得られた溶液を注入し、負荷液を捨てた後、5 vol% 酢酸エチル含有 *n*-ヘキサン 25 mL で溶出させた。溶出液を 40℃以下で濃縮し、溶媒を除去した後、メタノールで正確に 10 mL としたものを試験溶液とした。

9. 添加回収試験

添加回収試験用混合標準溶液を試料 (5.0 g) に添加し、B. 研究方法の 8. 試験溶液の調製 (図 2) に従って添加回収試験を実施した。BT の添加濃度は、定量限界値濃度 (0.4 ng/g) とした。安定同位体標識化合物の回収率は、添加回収試験溶液と添加相当濃度の溶媒希釈標準溶液のレスポンス比により算出した。また、ブランク試料から BT が定量された場合は、添加試料から定量値を差し引いて真度を求めた。

10. 試料中の含量の測定

添加回収試験にて良好な結果が得られた BT

について、添加回収試験を行った種類の試料を用いて、試料中の含量の測定を行った。

C. 研究結果及び考察

1. 添加回収試験

1) 魚介類試料

前年度は、アジ、サバ、タラ及びマグロの4種の魚試料を用いて添加回収試験(定量限界値濃度:0.4 ng/g)を実施した。今年度は、魚介類試料としてサーモン、タイ、ブリ、カキ、ホタテ、イカ及びエビを用いて、同様に実施した。また、操作ブランクとして、試料に蒸留水を用いて試験溶液を調製して測定した。

ブリ試料、カキ試料及びイカ試料の添加回収試験における操作ブランク、試料ブランク(未添加試料)、添加試料及び添加回収試験における回収率100%相当の溶媒標準溶液の代表的なクロマトグラムを図3～図5に示した。

① 選択性

UV-P、UV-326及びUV-329において、操作ブランクに定量限界値以上の面積値のピークが検出された。定性イオン/定量イオンの強度比も標準物質とおおよそ一致(80%～120%)しており、これらのBTは試験溶液調製操作によるコンタミネーションであると考えられた。そのため、この3種について本法で定量限界値0.4 ng/gの分析を行うことは困難であった。UV-Pは*n*-ヘキサン転溶、5%含水シリカゲルカラムによる精製及びフロリジルミニカラム精製、UV-326は主に5%含水シリカゲルカラム精製、UV-329は*n*-ヘキサン転溶及びフロリジルミニカラム精製によりコンタミネーションしていた。本検討ではコンタミネーションを低減させる方法を検討したが、その改善まで検討することはできなかった。したがって、UV-P、UV-326及びUV-329を測定するためには、さらなる検討が必要であると考ええる。

UV-P、UV-326及びUV-329を除くBTについては、同一保持時間にピークが認められても、定量限界値濃度に相当するピーク強度の1/10

未満であったことから、選択性に問題はなかった。ただし、カキ試料においてUV-328のピークがブランク試料から検出されたため、選択性の評価は行えなかった。この点に関しては、UV-328を含有していないカキブランク試料を用いて再度検討する必要があると考えられる。しかしながら、カキブランク試料において検出されたUV-328のピークは定性イオン/定量イオンの強度比が一致していた。さらに、他の魚介類試料においてUV-328のブランク試料における選択性に問題がないことからコンタミネーションによる影響は低いと考えられる。したがって、当該ピークはカキ試料からUV-328が検出されたことによるものであると推察される。

② 真度、併行精度及び定量限界値

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

UV-P、UV-326、UV-329及びUV-360以外の9種のBTについて、検討した魚介類試料における真度($n = 5$)は72.9%～119.4%、併行精度(RSD%)は0.5%～12.2%で前年度の魚種同様に良好な結果が得られた(表3-1及び表3-2)。定量限界値濃度での添加回収試験のクロマトグラムより算出した S/N は、検討した何れの試料においても $S/N \geq 10$ を満たしていた。また、安定同位体標識化合物の回収率は、54.8%～99.0%であった(表4-1及び表4-2)。

2) TD試料 - 第10群試料

表2に詳細を記した第10群試料X-1、X-2及びX-3を用いて、添加回収試験(定量限界値濃度:0.4 ng/g)を実施した。実験B. 研究方法の8. 試験溶液の調製操作のうち、*n*-ヘキサン転溶時の振とう後にエマルジョンが発生し、静置後もヘキサン層を得るのが困難だった。したがって、エマルジョンを含むヘキサン層を採取し遠心分離する操作を追加して試験溶液の調製を実施した。

第10群試料X-1の添加回収試験における操

作ブランク、試料ブランク、添加試料及び添加回収試験における回収率 100%相当の溶媒標準溶液の代表的なクロマトグラムを図 6 に示した。

① 選択性

魚介類試料の添加回収試験で良好な結果が得られていた 9 種のうち、UV-PS について、分離困難な夾雑ピークが確認された(図 6 UV-PS 試料ブランク及び添加試料)。8 種の BT については、試料ブランクにおいて同一保持時間にピークが認められても、定量限界値濃度に相当するピーク強度の 1/10 未満であったことから、今回の定量限界値濃度における定量への影響は小さく、選択性に問題はないと考えた。

② 真度

8 種の BT について、検討した第 10 群 3 種類の試料における真度は、77.7%~117.1%で魚介類試料同様に良好な結果が得られた(表 5)。定量限界値濃度での添加回収試験のクロマトグラムより算出した S/N は、検討した何れの試料においても $S/N \geq 10$ を満たしていた。また、安定同位体標識化合物の回収率は、57.6%~88.0%であった(表 6)。

概ね良好な結果であったが、 n -ヘキサン転溶時の振とう後にエマルジョンが発生していたため、夾雑成分を多く含む試料を分析する場合、転溶時の塩化ナトリウム溶液の濃度等の転溶条件の検討が必要であると考えられる。

10. 試料中の含量の測定

添加回収試験にて良好な結果が得られた BT について、添加回収試験を行った種類の試料を用いて、試料中の含量の測定を行った。

その結果、カキ試料において UV-328 が 0.6 ng/g 検出された(図 4 UV-328 試料ブランク)。その他、すべての試料において定量限界値以上の検出はなかった。しかしながら、操作ブランク以上かつ $S/N \geq 3$ 以上のピークが認められている試料もあり、その試料中に痕跡量の BT が含ま

れている可能性が示唆された(表 7 及び図 7)。マグロやブリ等の特定の魚種においては、BT を含有しているという報告もあることから^{14)~18)}、必要に応じてより高感度な分析法を検討することが望ましい。

D. 結論

魚介類試料中の BT 分析法として、BT を試料からメタノールで抽出し、 n -ヘキサンと 2 w/v%塩化ナトリウム溶液を加え、 n -ヘキサン転溶した後、シリカゲルカラムとフロリジルミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量及び確認する方法を開発した。

定量限界値濃度(0.4 ng/g)での魚介類試料を用いた添加回収試験において検討した 13 種のうち 9 種の BT について、真度は 72.9%~119.4%、併行精度(RSD%)は 0.5%~12.2%であった。また、TD 試料第 10 群試料の添加回収試験において、8 種の BT について真度は 77.7%~117.1%であった。定量限界値濃度での添加回収試験のクロマトグラムより算出した S/N は、検討した何れの試料においても $S/N \geq 10$ を満たしていた。

本法を用いて試料中の含量を測定した結果、カキに UV-328 が 0.6 ng/g 検出された。その他すべての試料において定量限界値以上の検出はなかった。しかしながら、操作ブランク以上かつ $S/N \geq 3$ 以上のピークが認められている試料もあり、その試料中に痕跡量の BT が含まれている可能性が示唆された。今後、実態調査を行うためには、必要に応じてより高感度な分析法を検討することが望ましい。さらに、BT はプラスチックやシリコン製品からの混入が考えられることから、操作ブランクからの BT の混入を低減させることが課題である。

E. 参考文献

- 1) Stockholm Convention Eleventh meeting of the Conference of the Parties to the Stockholm Convention
<https://chm.pops.int/TheConvention/Conf>

- erenceoftheParties/Meetings/COP11/tabid/9310/Default.aspx
- 2) 経済産業省「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律施行令の一部を改正する政令」が閣議決定されました
<https://www.meti.go.jp/press/2024/12/20241213002/20241213002.html>
 - 3) 経済産業省 化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 第1種特定化学物質一覧
https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/about/class1specified_chemicals_list_20250218r.pdf
 - 4) 経済産業省 化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 監視化学物質一覧
https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/files/ippantou/monitoring_chemicals_list.pdf
 - 5) M. Hirata-Koizumi *et al.*: Transcriptome analyses demonstrate that Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α (PPAR α) activity of an ultraviolet absorber, 2- (2'-hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl) benzotriazole, as possible mechanism of their toxicity and the gender differences. *The Journal of Toxicological Sciences*, **41**, 693-700, 2016
 - 6) 中尾晃幸: 科学研究費助成事業 2021 年度研究成果報告書 母乳摂取量から推定するベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤による乳児へのリスク評価
 - 7) 中尾晃幸ほか: 母乳に含まれるベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の解析とその汚染原調査. 第2回環境化学物質3学会合同大会要旨, P-128, 2023
 - 8) 吉識亮介 ほか: 兵庫県内の河川および大気中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の汚染実態について. *環境化学*, **31**, 30-39, 2021
 - 9) 西野貴裕 ほか: 国内における化審法関連物質(ヘキサブロモシクロデカン及びベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤)の共同実態調査【国立環境研究所Ⅱ型共同研究「国内における化審法関連物質の排出源および動態の解明」を通じて】. *環境化学*, **28**, 69-76, 2018
 - 10) 木村久美子, 西野貴裕: ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の分析法の検討, 第24回環境化学討論会要旨, P-070, 2015
 - 11) 栗原正憲, 中田利明, 飯村晃: 手賀沼における底質中 HBCD 及び BUVs の鉛直分布調査. 第25回環境化学討論会要旨, P-045, 2016
 - 12) 津田泰三 ほか: GC/MS による水試料中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の定量法検討. 第2回環境化学討論会要旨, P-126, 2017
 - 13) 中尾晃幸 ほか: 工業用紫外線吸収剤であるベンゾトリアゾール化合物による環境汚染実態について. 第27回環境化学討論会要旨, 1B-08, 2018
 - 14) 山口貴弘 ほか: 魚介類中ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の汚染実態調査について. *大阪府立公衛研所報*, **52**, 35-40, 2014
 - 15) H. Nakata, S. Murata and J. Filatreau: Occurrence and concentrations of benzotriazole UV stabilizers in marine organisms and sediments from the Ariake Sea, Japan. *Environmental Science & Technology*, **43**, 6920-6926, 2009
 - 16) 津田泰三 ほか: GC/MS/MS による生物試料中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の定量法検討. 第25回環境化学討論会要旨, P-115, 2016
 - 17) 西野貴裕: 環境研究総合推進費 終了研究成果報告書 5-1954(Ⅱ-2) 国内水環境における生活由来物質の蓄積実態解明、底生物に対するリスクの評価
 - 18) 堤智昭: 厚生労働科学研究補助金(食の安心・安全確保推進研究事業) 平成21年度分

担研究報告書 (2-4) 食品中ベンゾトリアゾ
ール類の迅速測定法の開発

F. 研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 中代智菜美、今井浩一、堤 智昭:LC-
MS/MS による魚試料中のベンゾトリアゾ
ール系紫外線吸収剤の一斉分析法の
検討. 第 120 回日本食品衛生学会学術
講演会(2024.11).

表 1 魚介類試料

小分類	試料	
あじ、いわし類	アジ A	真アジ
	アジ B	真アジ
	サバ A	真サバ
	サバ B	真サバ
さけ、ます	サーモン A	アトランサーモン
	サーモン B	サーモントラウト
たい、かれい類	タイ A	真ダイ
	タイ B	真ダイ
	タイ C	真ダイ
	タラ A	真ダラ
	タラ B	真ダラ
まぐろ、かじき類	マグロ A	キハダマグロ
	マグロ B	クロマグロ(赤身)
	マグロ C	クロマグロ
	マグロ D	メバチマグロ
	マグロ E	メバチマグロ(赤身)
	マグロ F	メバチマグロ(赤身)
	マグロ G	メバチマグロ(中トロ)
その他の生魚	ブリ A	ブリ A
	ブリ B	ブリ B
	ブリ C	ブリ C
	ブリ D	ブリ D
	ブリ E	ブリ E
	ブリ F	ブリ F
貝類	カキ	カキ
	ホタテ	ホタテ(貝柱)
いか、たこ類	イカ	イカ(ソデイカ)
えび、かに類	エビ	エビ(バナメイエビ)

表 2-1 TD 試料 - 第 10 群(魚介類)試料 X-1

番号	小分類	一日 摂取量 (g)	分別量 (g)	各分別量 (g)	X-1		
					食品名	調理	調理後 重量(g)
48	あじ、 いわし類	7.80	117.0	60.0	さば(しめさば)		60.0
				57.0	さんま	焼く	48.2
49	さけ、 ます	5.20	78.0	39.0	しろさけ(秋鮭)	焼く	34.0
				39.0	べにざけ	焼く	32.2
50	たい、 かれい類	3.80	57.0	30.0	こもちがれい	焼く	26.2
				27.0	まだら	焼く	23.8
51	まぐろ、 かじき類	5.40	81.0	42.0	めばちまぐろ		42.0
				39.0	かつお		39.0
52	その他の 生魚	5.00	75.0	39.0	いさき	焼く	33.0
				36.0	ぶり		36.0
53	貝類	3.20	48.0	24.0	つぶがいがい		24.0
				24.0	ほたて貝柱		24.0
54	いか、 たこ類	2.70	40.5	21.0	まだこ		21.0
				19.5	ほや		19.5
55	えび、 かに類	3.40	51.0	27.0	あまえび	焼く	26.4
				24.0	ずわいがに		24.0
56	塩蔵、 生干し、乾物	15.80	237.0	120.0	まあじ(開き干し)	焼く	114.8
				117.0	ちりめん		117.0
57	缶詰	3.10	46.5	22.5	いわしかば焼き缶詰		22.5
				24.0	さば水煮缶詰		24.0
58	佃煮	0.20	3.0	3.0	佃煮あみ		3.0
59	練り製品	7.00	105.0	60.0	はんぺん		60.0
				45.0	かに風味かまぼこ		45.0
60	魚肉ハム、 ソーセージ	0.62	9.3	9.3	魚肉ソーセージ		9.3
計		63.22	948.3	948.3			908.9

1 日 摂 取 量: 2017-2019 年国民健康・栄養調査 結果表(関東 I)による量(日常食の構成による)

調理後重量: 調理により変化した後の重量

表 2-2 TD 試料 - 第 10 群(魚介類)試料 X-2

番号	小分類	一日 摂取量 (g)	分別量 (g)	各分別量 (g)	X-2		
					食品名	調理	調理後 重量(g)
48	あじ、 いわし類	7.80	117.0	60.0	しめさば		60.0
				57.0	小あじ	焼く	48.0
49	さけ、 ます	5.20	78.0	39.0	銀ざけ(刺身用)		39.0
				39.0	大西洋さけ (アトランティックサーモン)	焼く	33.7
50	たい、 かれい類	3.80	57.0	30.0	子持ちカレイ	焼く	27.0
				27.0	まだい	焼く	19.9
51	まぐろ、 かじき類	5.40	81.0	42.0	カツオ		42.0
				39.0	めばちまぐろ		39.0
52	その他の 生魚	5.00	75.0	39.0	さわら	焼く	33.7
				36.0	ぶり		36.0
53	貝類	3.20	48.0	24.0	かき	ゆでる	13.0
				24.0	あさり	ゆでる	15.3
54	いか、 たこ類	2.70	40.5	21.0	あかいいか		21.0
				19.5	するめいか		19.5
55	えび、 かに類	3.40	51.0	27.0	ブラックタイガー	ゆでる	25.0
				24.0	素干しさくらえび		24.0
56	塩蔵、 生干し、乾物	15.80	237.0	120.0	しらす干し(ちりめん)		120.0
				117.0	まあじ(開き干し)	焼く	107.0
57	缶詰	3.10	46.5	22.5	からふとます水煮缶詰		22.5
				24.0	さんま蒲焼き缶詰		24.0
58	佃煮	0.20	3.0	3.0	あさり佃煮		3.0
59	練り製品	7.00	105.0	60.0	蒸しかまぼこ		60.0
				45.0	さつま揚げ		45.0
60	魚肉ハム、 ソーセージ	0.62	9.3	9.3	魚肉ソーセージ		9.3
計		63.22	948.3	948.3			886.9

1 日 摂取量: 2017-2019 年 国民健康・栄養調査 結果表(関東 I)による量(日常食の構成による)

調理後重量: 調理により変化した後の重量

表 2-3 TD 試料 - 第 10 群(魚介類)試料 X-3

番号	小分類	一日 摂取量 (g)	分別量 (g)	各分別量 (g)	X-3		
					食品名	調理	調理後 重量(g)
48	あじ、 いわし類	7.80	117.0	60.0	まあじ	焼く	54.2
				57.0	さば(しめさば)		57.0
49	さけ、 ます	5.20	78.0	39.0	にじます(サーモントラウト)		39.0
				39.0	紅鮭	焼く	35.4
50	たい、 かれい類	3.80	57.0	30.0	真鯛		30.0
				27.0	ぎんだら	焼く	21.7
51	まぐろ、 かじき類	5.40	81.0	42.0	きはだまぐろ		42.0
				39.0	めかじき	焼く	33.3
52	その他の 生魚	5.00	75.0	39.0	かんぱち	焼く	34.3
				36.0	ほっけ	焼く	30.9
53	貝類	3.20	48.0	24.0	ほっき貝(生食用)		24.0
				24.0	ほたて貝(生食用)		24.0
54	いか、 たこ類	2.70	40.5	21.0	するめいか		21.0
				19.5	あかいいか	焼く	17.8
55	えび、 かに類	3.40	51.0	27.0	あまえび		27.0
				24.0	素干しさくらえび		24.0
56	塩蔵、 生干し、乾物	15.80	237.0	120.0	まいわし(丸干し)	焼く	112.4
				117.0	しらす干し		117.0
57	缶詰	3.10	46.5	22.5	まぐろ水煮缶詰		22.5
				24.0	さばみそ煮缶詰		24.0
58	佃煮	0.20	3.0	3.0	わかさぎ(あめ煮)		3.0
59	練り製品	7.00	105.0	60.0	つみれ	焼く	60.0
				45.0	焼き竹輪		45.0
60	魚肉ハム、 ソーセージ	0.62	9.3	9.3	魚肉ソーセージ		9.3
計		63.22	948.3	948.3			908.8

1 日 摂 取 量: 2017-2019 年国民健康・栄養調査 結果表(関東 I)による量(日常食の構成による)

調理後重量: 調理により変化した後の重量

表 3-1 魚介類試料 添加回収試験

BT	ブリ		タイ		サーモン	
	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)
UV-PS	105.6	2.8	108.2	1.8	96.2	1.9
UV-9	93.4	3.4	104.9	3.0	92.1	4.2
UV-090	88.6	6.9	98.4	7.4	89.5	3.8
UV-234	109.9	3.3	81.4	3.7	119.4	6.5
UV-320	111.8	3.1	103	4.4	101.7	2.5
UV-327	104.3	6.0	103.3	8.5	109.6	6.6
UV-328	88.9	11.2	98.3	8.1	108.5	4.1
UV-350	110.3	8.6	105.6	3.0	102.8	3.4
UV-928	104.1	8.4	73.5	12.2	102.5	3.2
添加濃度:0.4 ng/g						(n = 5)

表 3-2 魚介類試料 添加回収試験

BT	カキ		ホタテ		イカ		エビ	
	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)
UV-PS	83.2	1.6	96.2	2.6	99.9	1.6	102.3	1.4
UV-9	93.3	2.0	91.8	1.4	99.0	1.1	84.3	1.1
UV-090	78.9	1.5	79.3	0.7	78.8	0.7	74.4	1.1
UV-234	106.2	2.5	97.5	0.7	92.7	1.5	92.9	1.6
UV-320	103.1	1.5	94.8	1.2	101.0	2.2	104.9	0.8
UV-327	102.1	2.6	72.9	2.4	73.8	4.4	85.6	3.1
UV-328	107.4	8.2	105.4	2.1	112.0	10.7	95.5	1.8
UV-350	96.4	1.8	98.9	1.5	88.7	10.9	95.5	1.9
UV-928	107.7	2.1	91.7	0.5	95.3	2.2	89.0	0.7
添加濃度:0.4 ng/g								(n = 5)

表 4-1 魚介類試料 添加回収試験(安定同位体標識化合物の回収率)

BT <i>d</i>	ブリ		タイ		サーモン	
	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)
UV-P <i>d</i> ₃	91.9	8.5	79.2	4.0	83.3	2.3
UV-PS <i>d</i> ₄	90.0	9.8	77.7	1.5	82.2	2.3
UV-234 <i>d</i> ₄	71.7	6.8	82.8	9.0	60.7	3.4
UV-320 <i>d</i> ₄	73.0	7.2	75.0	3.8	61.7	3.1
UV-327 <i>d</i> ₃	74.1	6.7	71.4	2.2	54.8	10.6
UV-328 <i>d</i> ₄	90.2	9.7	73.2	4.4	62.8	12.0
UV-350 <i>d</i> ₄	93.2	9.1	79.9	11.2	69.4	6.1
UV-928 <i>d</i> ₄	84.4	9.5	85.4	4.4	75.3	3.1
添加濃度: 4 ng/g						(<i>n</i> = 5)

表 4-2 魚介類試料 添加回収試験(安定同位体標識化合物の回収率)

BT <i>d</i>	カキ		ホタテ		イカ		エビ	
	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)	真度 (%)	RSD (%)
UV-P <i>d</i> ₃	87.5	0.6	86.7	1.4	78.0	1.0	90.1	1.2
UV-PS <i>d</i> ₄	92.9	1.2	86.4	2.0	75.7	1.1	86.7	1.6
UV-234 <i>d</i> ₄	82.5	0.6	86.7	2.0	80.4	1.2	80.3	1.2
UV-320 <i>d</i> ₄	89.4	1.9	92.4	1.8	76.7	2.0	79.6	1.5
UV-327 <i>d</i> ₃	83.0	1.2	79.8	2.1	72.2	1.3	77.7	2.4
UV-328 <i>d</i> ₄	73.9	1.1	76.3	0.9	73.5	3.1	75.9	1.7
UV-350 <i>d</i> ₄	75.4	9.7	90.5	1.4	74.4	1.1	81.8	1.4
UV-928 <i>d</i> ₄	86.2	0.6	84.3	2.1	76.4	0.8	79.6	1.9
添加濃度: 4 ng/g								(<i>n</i> = 5)

表 5 TD 試料 - 第 10 群試料 添加回収試験

BT	真度 (%)		
	X-1	X-2	X-3
UV-9	83.3	91.1	91.4
UV-090	81.9	78.9	77.7
UV-234	108.0	107.5	107.4
UV-320	99.9	100.4	92.8
UV-327	101.0	99.1	100.9
UV-328	117.1	115.9	102.5
UV-350	104.4	103.6	96.3
UV-928	98.0	102.3	96.6
添加濃度: 0.4 ng/g			($n = 1$)

表 6 TD 試料 - 第 10 群試料 添加回収試験
(安定同位体標識化合物の回収率)

BT d	真度 (%)		
	X-1	X-2	X-3
UV-P d_3	83.4	80.1	79.4
UV-PS d_4	83.8	79.0	76.7
UV-234 d_4	72.9	67.9	68.1
UV-320 d_4	74.4	72.0	71.8
UV-327 d_3	61.3	58.8	61.3
UV-328 d_4	76.3	67.9	57.6
UV-350 d_4	74.3	71.1	70.9
UV-928 d_4	88.0	71.0	77.2
添加濃度: 4 ng/g			($n = 1$)

表 7 試料分析結果

試料	(ng/g)								
	UV-PS	UV-9	UV-090	UV-234	UV-320	UV-327	UV-328	UV-350	UV-928
アジ A	ND	ND	ND	(Tr)	Tr	Tr	Tr	Tr	ND*
アジ B	ND	ND	ND	(Tr)	Tr	Tr	Tr	Tr	ND*
サバ A	ND	ND	ND	ND*	(Tr)	ND	ND*	ND*	ND*
サバ B	ND	ND	ND	ND*	ND*	ND	ND*	ND*	ND*
サーモン A	ND	ND	ND	(Tr)	(Tr)	Tr	(Tr)	ND	ND*
サーモン B	ND	ND	ND	(Tr)	ND*	Tr	(Tr)	ND	(Tr)
タイ A	ND	ND	ND	Tr	ND	ND*	ND*	ND	Tr
タイ B	ND	ND	ND	(Tr)	Tr	(Tr)	(Tr)	Tr	ND*
タイ C	ND	ND	ND	(Tr)	ND	Tr	(Tr)	ND	(Tr)
タラ A	ND	ND	ND	(Tr)	ND	(Tr)	(Tr)	ND	(Tr)
タラ B	ND	ND	ND	(Tr)	ND	ND*	(Tr)	ND	ND*
マグロ A	ND	ND	ND*	(Tr)	ND	ND	ND*	ND	ND*
マグロ B	ND	ND	ND*	(Tr)	ND*	ND	ND*	ND*	(Tr)
マグロ C	ND	ND	ND*	(Tr)	Tr	ND*	ND*	Tr	ND*
マグロ D	ND	ND	ND*	(Tr)	ND*	ND	ND*	ND*	ND*
マグロ E	ND	ND	ND*	Tr	ND*	ND	ND*	ND*	ND*
マグロ F	ND	ND	ND*	Tr	ND	ND	ND*	ND	ND*
マグロ G	ND	ND	ND*	(Tr)	ND	ND	ND*	ND	ND*
ブリ A	ND	ND	ND	(Tr)	(Tr)	Tr	Tr	ND	(Tr)
ブリ B	ND	ND	ND	Tr	ND	ND	(Tr)	ND	ND*
ブリ C	ND	ND	ND	(Tr)	ND	ND*	ND*	ND	ND*
ブリ D	ND	ND	ND	(Tr)	ND	ND	ND*	ND	ND*
ブリ E	ND	ND	ND	(Tr)	ND*	(Tr)	(Tr)	(Tr)	ND*
ブリ F	ND	ND	ND*	(Tr)	ND	ND*	ND*	ND	ND*
カキ	ND	ND	ND	Tr	Tr	Tr	0.6	Tr	Tr
ホタテ	ND	ND	ND	(Tr)	Tr	(Tr)	Tr	Tr	(Tr)
イカ	ND	ND	ND	Tr	ND	ND	ND*	ND	ND
エビ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND*	ND	ND

ND:ピーク検出なし

ND*:操作ブランクと同等またはそれ以下のピーク検出

(Tr):操作ブランク以上のピーク検出

(Tr):操作ブランクの2倍以上かつ S/N 3 以上のピーク検出

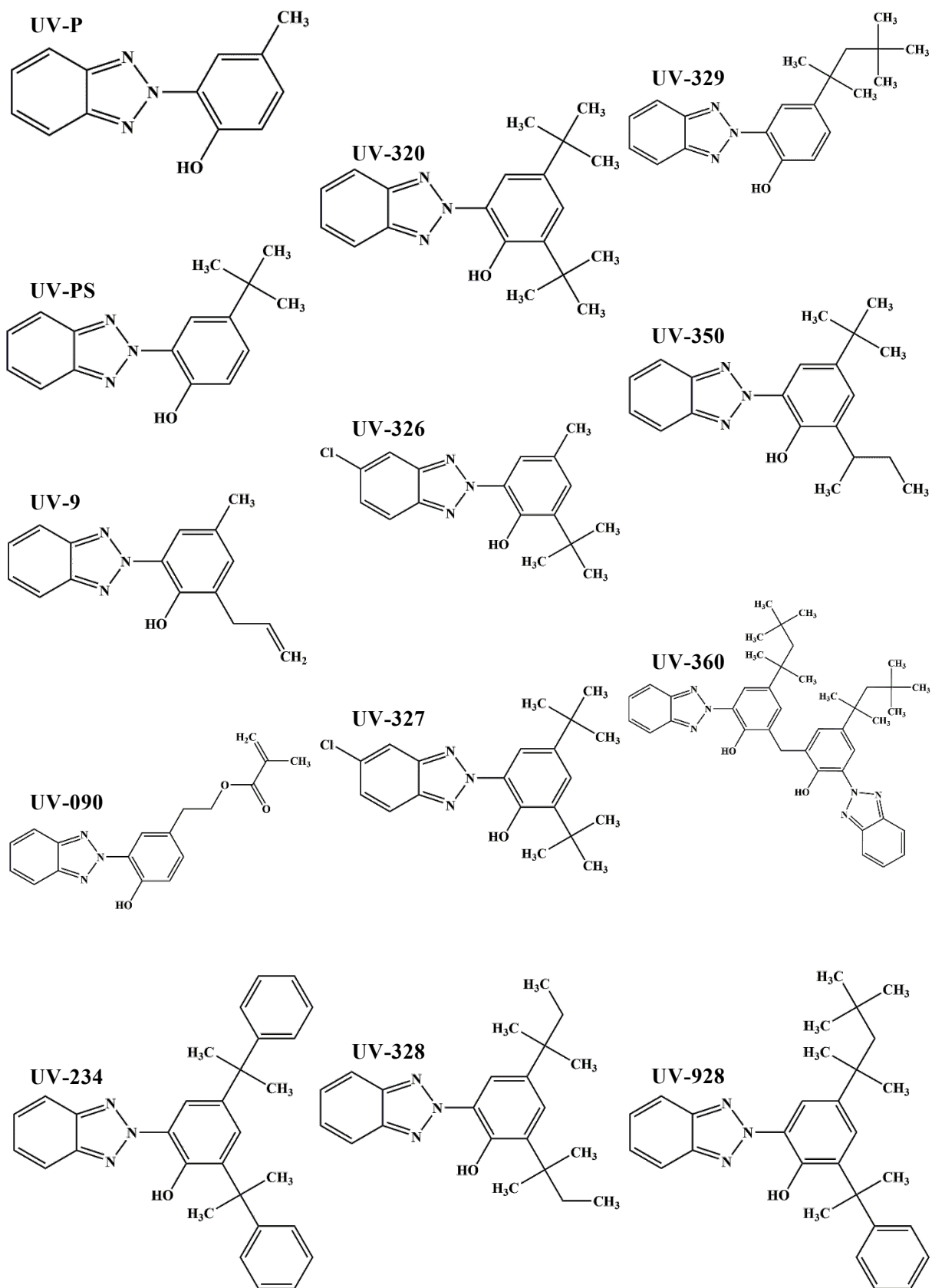


図 1 分析対象とした BT の構造式

秤 取

↓ 魚介類試料: 5.0 g

↓ 内標準物質添加

メタノール抽出

↓ メタノール 30 mL を加えてホモジナイズ

↓ 毎分 3,500 回転、5 分間遠心分離

↓ 上清を採取

↓ 残留物にメタノール 30 mL を加えてホモジナイズ

↓ 毎分 3,500 回転、5 分間遠心分離

↓ 上清を合わせてメタノールで 100 mL に定容

↓ 抽出液 20 mL (試料 1.0 g 相当) を採り、減圧濃縮して溶媒除去

***n*-ヘキサン転溶**

↓ 2 w/v% 塩化ナトリウム溶液 100 mL 及び *n*-ヘキサン 30 mL を添加

↓ 振とう 5 分間

↓ *n*-ヘキサン層を採取

↓ 水層に *n*-ヘキサン 30 mL を加えて、同様に操作

↓ *n*-ヘキサン層を合わせて無水硫酸ナトリウム 2 g で脱水・ろ過

↓ 減圧濃縮 (約 1 mL) し、*n*-ヘキサン 1 mL を加えて溶解・・・①

シリカゲル精製

↓ 5% 含水シリカゲル 5 g に無水硫酸ナトリウム 1 g を積層

↓ *n*-ヘキサン 40 mL でコンディショニング

↓ ①を注入 (負荷液を採取)

↓ 10 vol% 酢酸エチル含有 *n*-ヘキサン 100 mL で溶出

↓ 負荷液及び溶出液を採取

↓ 減圧濃縮 (約 1 mL) し、*n*-ヘキサン 1 mL を加えて溶解・・・②

InertSep FL-PR (2 g/12 mL)

↓ *n*-ヘキサン 10 mL でコンディショニング

↓ ②を注入 (負荷液は捨てる)

↓ 5 vol% 酢酸エチル含有 *n*-ヘキサン 25 mL で溶出

↓ 溶出液を減圧濃縮し、溶媒除去

↓ メタノールを加えて正確に 10 mL とする

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 2 試験溶液の調製方法 (分析法フローチャート)

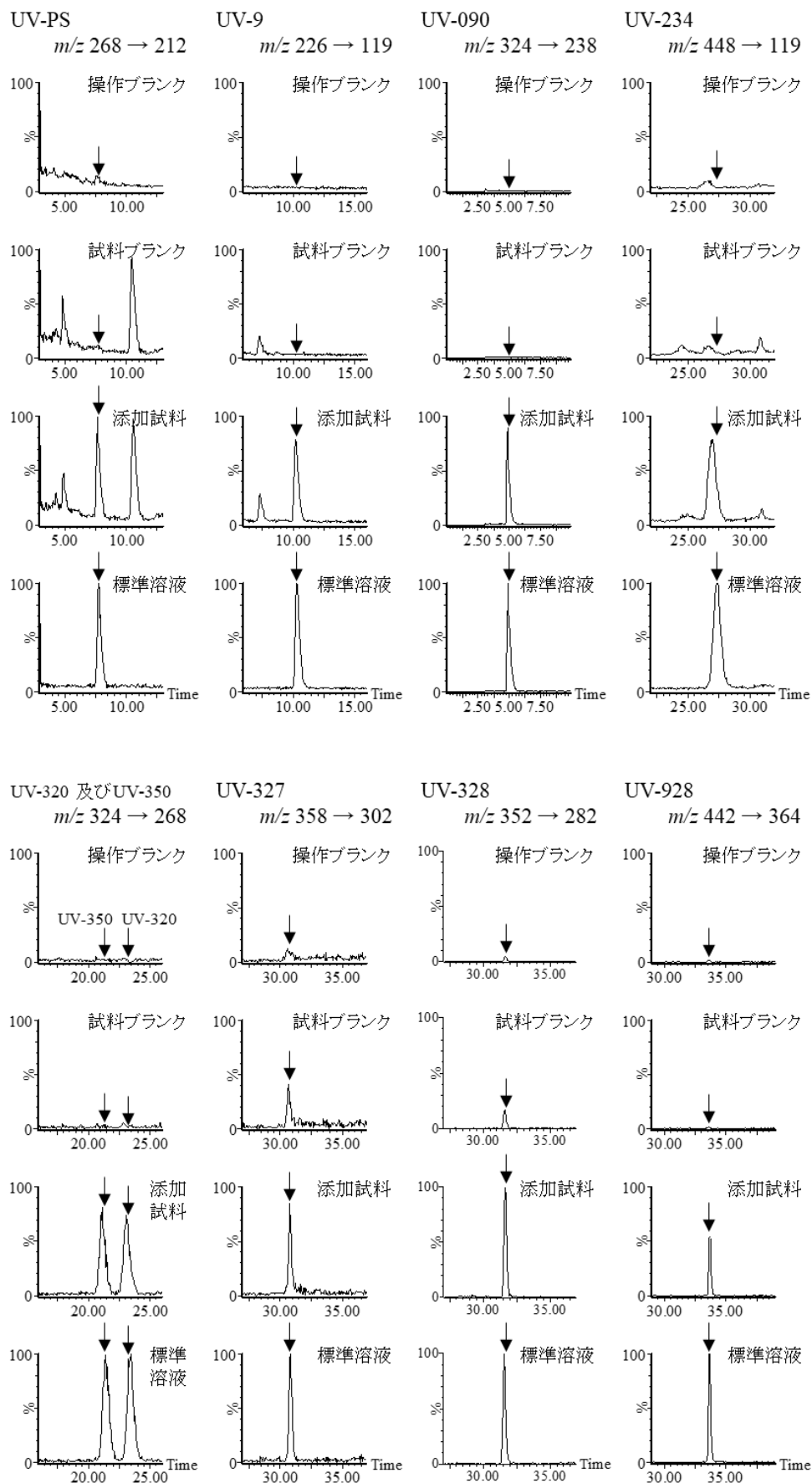


図 3 プリ試料 添加回収試験時に得られた SRM クロマトグラム
 添加濃度: 0.4 ng/g (試験溶液中濃度 0.04 μ g/L) 標準溶液: 0.04 μ g/L

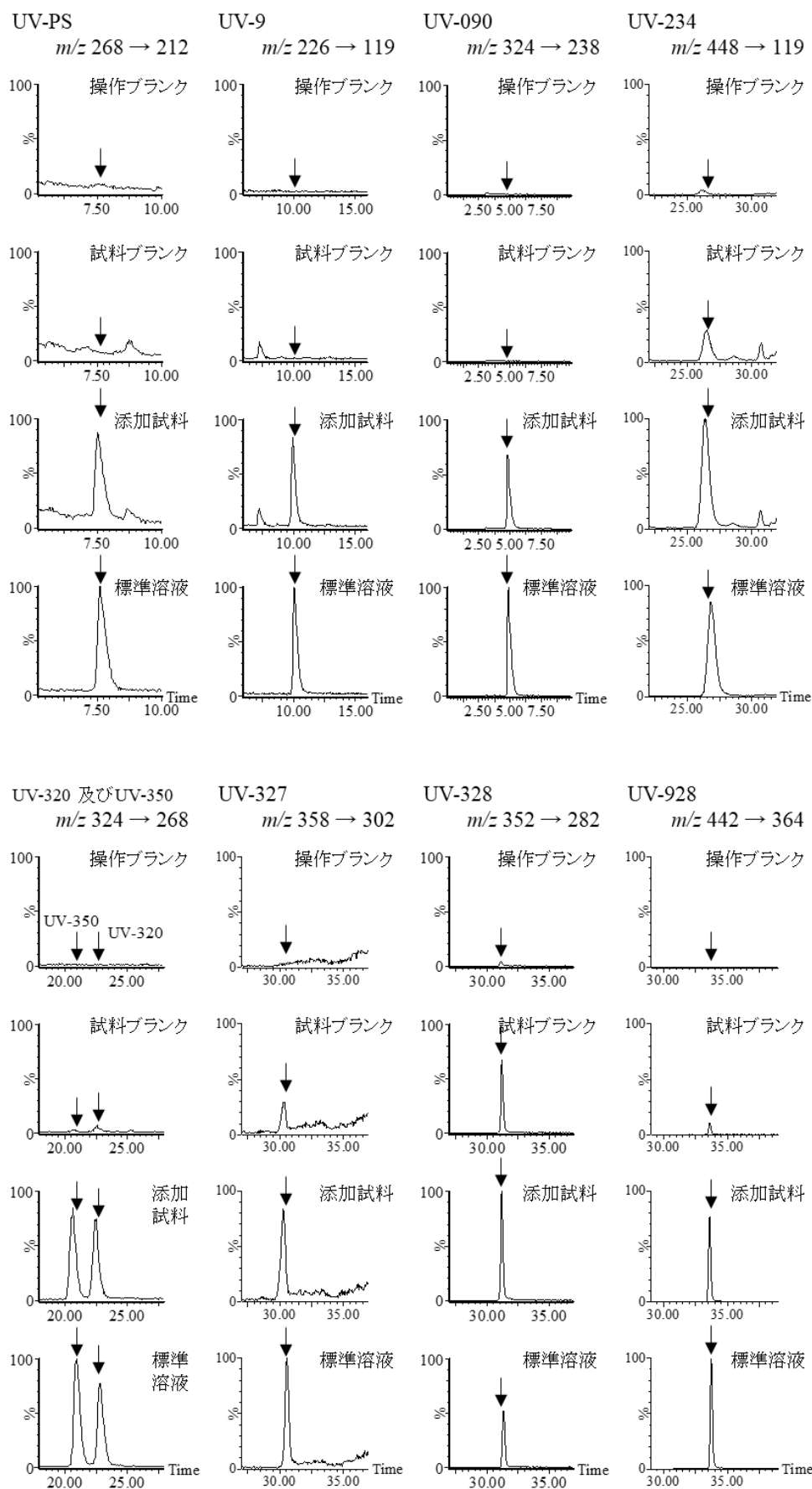


図 4 カキ試料の添加回収試験時に得られた SRM クロマトグラム

添加濃度: 0.4 ng/g (試験溶液中濃度 0.04 μ g/L)

標準溶液: 0.04 μ g/L

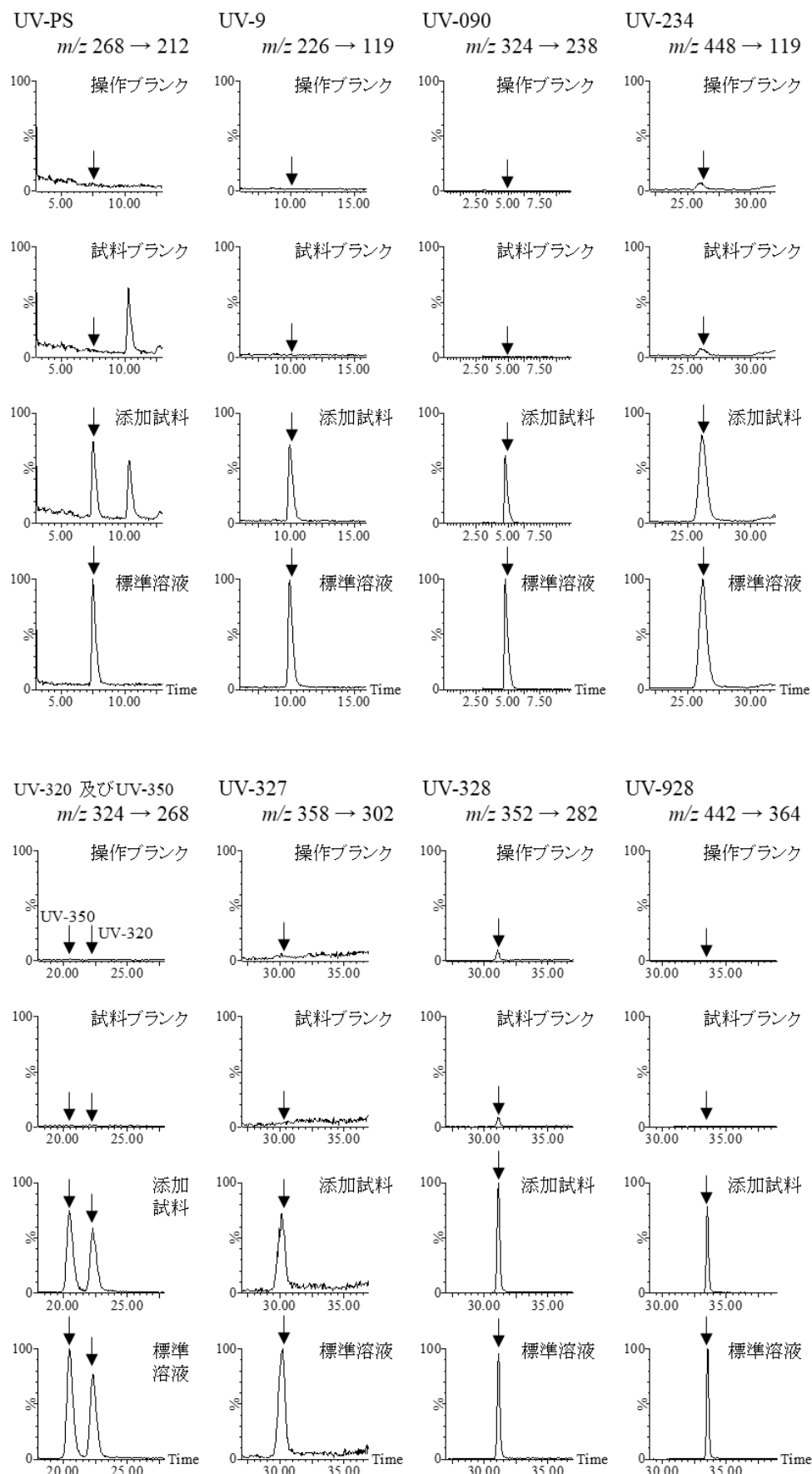


図 5 イカ試料の添加回収試験時に得られた SRM クロマトグラム

添加濃度: 0.4 ng/g (試験溶液中濃度 0.04 μ g/L)

標準溶液: 0.04 μ g/L

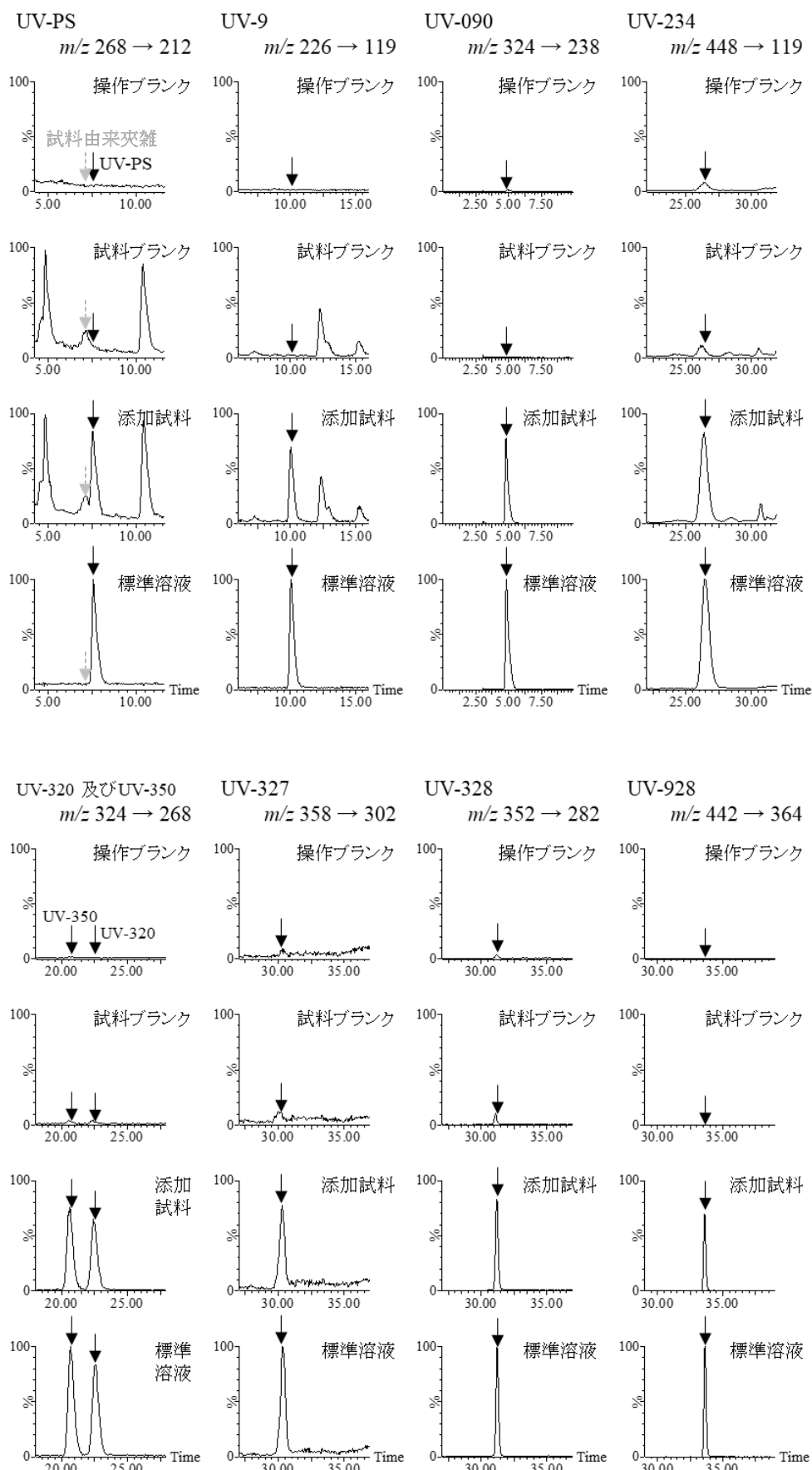


図 6 TD 試料の添加回収試験時に得られた SRM クロマトグラム
 添加濃度: 0.4 ng/g (試験溶液中濃度 0.04 $\mu\text{g/L}$) 標準溶液: 0.04 $\mu\text{g/L}$

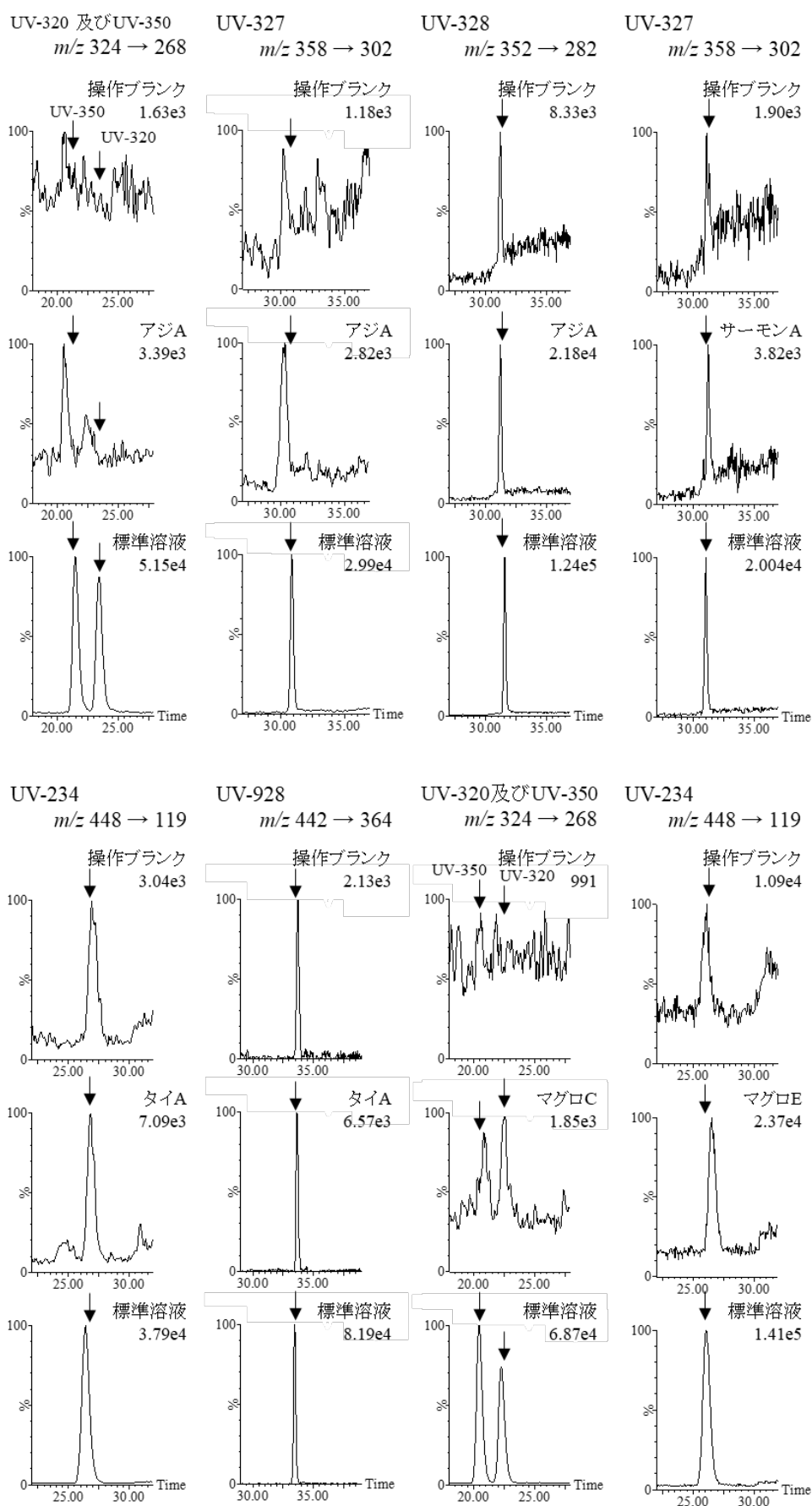


図 7 試料分析時に得られた代表的な SRM クロマトグラム

Ⅱ．分担研究年度終了報告書

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-3) 食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

研究分担者 堤 智昭

令和6年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発のための研究

分担研究年度終了報告書

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-3) 食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

研究分担者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所食品部

研究要旨

本研究では食品中のリン酸エステル系難燃剤(OPFRs)の摂取量推定に必要な分析法の開発を目的とした。令和5年度に食品中のOPFRsの一斉分析が可能な前処理方法として、アセトニトリル抽出・塩析法およびゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)精製法について検討を行ったところ、食品によっては更なる精製を考慮する必要があった。そこで、本年度はPSA固相ミニカラムによる精製の追加検討を行った上で、OPFRs一斉分析法の検出下限値の推定、添加回収試験を実施した。

PSA固相ミニカラムによる精製について検討した結果、PSA固相カラムは、OPFRsを損失することなく精製が可能であり、OPFRsの一斉分析法に適用可能であった。

次に、OPFRs一斉分析法の検出下限値の推定を行った。耐容一日摂取量(TDI)が示されているOPFRsについて、推定した検出下限値で当該物質が含まれると仮定して摂取量を試算した結果、いずれもTDIと比較して十分に低い値であった。

サーモン、玄米、牛乳を用いて添加回収試験を行った結果、玄米におけるトリス(3,5-ジメチルフェニル)ホスフェート(T35DMPPPhP)、牛乳におけるT35DMPPPhP、トリス(2-エチルヘキシル)ホスフェート(TEHP)を除いて72～120%の回収率が得られ概ね良好な結果であった。

サーモン、玄米、牛乳、トータルダイエット試料の1群(米・米加工品)および12群(乳・乳製品)を分析した結果、リン酸トリス(2-クロロエチル)(TCEP)、リン酸トリブチル(TBP)およびリン酸2-エチルヘキシルジフェニル(EHDPPhP)が検出下限を超えて検出され、OPFRsは環境中から食品へと移行している可能性が示唆された。

今後、摂取量推定のための分析を実施する際には、多様な食品に対応する必要がある。特に油脂を多く含む食品については、抽出溶媒によってはOPFRsの抽出効率が大きく変わることも懸念されるため、分析法の適用性を検証する際には注意が必要である。

研究協力者

福岡県保健環境研究所

佐藤 環、飛石和大、堀 就英

難燃剤は、製品を燃えにくくするために添加される化学物質であり、プラスチック、ゴム、繊維など幅広く使用されている。難燃剤には、有機系と無機系の2種類があり、有機系にはハロゲン系やリン系、無機系には金属水酸化物やアンチモン系がある。その中でも、ハロゲン系難燃剤は低

A. 研究目的

コストで効果的なため、様々な製品に使用されてきた。しかし、ハロゲン系難燃剤の一部には、環境中での残留性、生物濃縮性、ヒトを含む生物への毒性、長距離移動性が問題視され、日本では「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)」、国際的には「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約(POPs 条約)」によって規制された。そのため、様々な難燃剤が代替利用されるようになった。中でも、塩素や臭素を含有しない分子構造を持ち、焼却処分における有害なダイオキシン類の発生リスクを低減した難燃剤が選定されるようになっており、その選択肢としてリン酸エステル系難燃剤 (Organo Phosphate Flame Retardants; OPFRs) が挙げられる¹⁾。

OPFRs は、空気²⁾、ハウスダスト³⁾、河川水⁴⁾、⁵⁾、海水^{6),7)}、土壌⁸⁾、堆積物²⁾など、様々な環境から検出されている。また、OPFRs は室内環境から精白米への吸着⁹⁾や母乳からの検出¹⁰⁾が確認されており、環境から食品への OPFRs の移行が懸念される。一部の OPFRs は神経毒性や発がん性、遺伝毒性が疑われており^{11),12)}、食事を通じた健康への影響を評価することは極めて重要である。このような現況を踏まえ、本研究では、食品中の OPFRs の摂取量を推定するための分析法の開発を目的とした。令和4年度は、ガスクロマトグラフ・タンデム四重極型質量分析計 (GC-MS/MS) および液体クロマトグラフ・タンデム四重極型質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて、OPFRs を一斉に定量可能な測定方法を検討した。その結果、検討した機器における測定感度は LC-MS/MS 法が勝るが、ピーク分離に関しては GC-MS/MS 法が優れていた。OPFRs の測定方法としては、LC-MS/MS 法により定量を行うことを基本とし、高濃度で検出された場合に異性体分離に関して疑義が生じた際には GC-MS/MS 法を併用して確認する必要があると考えられた。また、将来的には、GC-MS/MS 法の高分離能と大気圧イオン化法の高感度を特徴に併せ持つ大気圧ガスクロマトグラフ・タンデム四重極型質量分

析計 (APGC-MS/MS) を用いた測定法の適用も考慮する必要があると結論付けた¹³⁾。令和5年度は、まず、APGC-MS/MS を用いて OPFRs を一斉に分析可能な方法を検討した。殆どの物質で検量線の直線性が確認できたが、現状では、LC-MS/MS 法が測定感度に優れており、微量分析に適していると考えられた。また、食品中において OPFRs を一斉に分析可能な前処理方法として、アセトニトリル抽出・塩析法およびゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) 精製法について検討を行った。一部の OPFRs は、測定時の試料マトリックスの影響を受けていると考えられ、食品によっては更なる精製を考慮する必要があった。引き続き精製方法を検討した上で、OPFRs 一斉分析法の構築を目指すこととした¹⁴⁾。そこで、本年度の研究では、精製方法の追加検討を行った上で、OPFRs 一斉分析法における検出下限値の推定、添加回収試験を実施した。

B. 研究方法

1. 試薬及び器具

1-1. 標準物質

分析対象とした OPFRs の標準溶液は、リン酸トリエチル (TEP)、リン酸トリブチル (TBP)、リン酸トリス(2-クロロエチル) (TCEP)、リン酸トリス(1-クロロ-2-プロパニル) (TCPP)、リン酸トリフェニル (TPhP)、リン酸トリプロピル (TPPrP)、リン酸 2-エチルヘキシルジフェニル (EHDPPhP)、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) (T35DMPPhP)、リン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル) (TDCPP)、リン酸トリス(2-エチルヘキシル) (TEHP)、リン酸トリス(2-イソプロピルフェニル) (T2iPPhP)、リン酸トリス(3-イソプロピルフェニル) (T3iPPhP)、リン酸トリス(4-イソプロピルフェニル) (T4iPPhP)、リン酸トリス(2,3-ジブロモプロピル) (TDBPP) の非標識 (ネイティブ体) 18 種類を (株) ウェリントンラボラトリージャパンより購入した。以

上の物質について化学式や物性等の情報を表1にまとめた。

クリーンアップスパイク標準溶液は、リン酸トリエチル- d_{15} (TEP- d_{15})、リン酸トリブチル- d_{27} (TBP- d_{27})、リン酸トリス(2-クロロエチル)- d_{12} (TCEP- d_{12})、リン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル)- d_{15} (TDCPP- d_{15})、リン酸トリス(2-ブトキシエチル)- $^{13}\text{C}_2$ (TBEP- $^{13}\text{C}_2$)、リン酸トリフェニル- $^{13}\text{C}_{18}$ (TPhP- $^{13}\text{C}_{18}$)、リン酸トリプロピル- d_{21} (TPrP- d_{21})を(株)ウェリントンラボラトリージャパンより、リン酸トリス(4-イソプロピルフェニル)- $^{13}\text{C}_{18}$ (T4iPPHP- $^{13}\text{C}_{18}$)の安定同位体ラベル化体8種類をCambridge Isotope Laboratories, Inc.より購入した。

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

1-2. 試薬及び器具

アセトニトリル(残留農薬・PCB 試験用)、アセトニトリル(LC/MS 分析用)、アセトン(ダイオキシン類分析用)、塩化ナトリウム(残留農薬・PCB 試験用)、シクロヘキサン(残留農薬・PCB 試験用)、蒸留水(LC/MS 分析用)、蒸留水(ヘキサン洗浄品、残留農薬・PCB 試験用)、 n -ヘキサン(ダイオキシン類分析用)、メタノール(LC/MS 分析用)は関東化学(株)より購入した。硫酸マグネシウム(無水)(特級)は富士フイルム和光純薬(株)より購入した。エチレンジアミン- N -プロピルシリル化シリカゲルミニカラムは InertSep PSA(500 mg/6 mL) をジーエルサイエンス(株)より購入した。

GPC 精製用の LC カラムは CLNpak EV-2000 AC、ガードカラムは CLNpak EV-G AC を昭和電工(株)より購入した。

分析用の LC カラムは、Acquity BEH C18(内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 1.7 μm)を日本ウォーターズ(株)より購入した。

1-3. 試料

サーモン、玄米および牛乳は福岡県内の小売店またはインターネットで購入した。サーモンはハンドブレンダーを、玄米はナイフミルを用いて細切均一化した。試料は-20℃の冷凍庫で保管し、分析時に解凍して使用した。

2. 機器

液体クロマトグラフ・タンデム四重極型質量分析計(LC-MS/MS)は、日本ウォーターズ(株)社製の Acquity UPLC H-Class Plus Binary/Xevo TQ-XS を使用した。

ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)は、島津製作所製の LC-20AD/SPD-20A を使用し、カラムオープンはジーエルサイエンス社製の CO 903 を使用した。

3. 試験溶液の調製

3-1. PSA 固相ミニカラムの検討

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

サーモン試料を用いて PSA 固相ミニカラム精製における OPFRs の回収率を評価した。試料約 10 g をガラス製の遠沈管に量り採り、アセトニトリル 20 mL を加えてホモジナイズ(10,000 rpm, 2 分間)した。1 g の塩化ナトリウムおよび 4 g の硫酸ナトリウム(無水)を加えて塩析、脱水を行った後、遠心分離した(4,000 rpm, 10min)。上澄み液を回収し、約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物をアセトン:シクロヘキサン(2:8)混液 10 mL に溶解し、遠心分離(4,000 rpm, 10 分間)して得られた上澄み液を GPC に供

した。GPC 条件は表 2 に示した。注入後 9～21 分の画分を約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去し、アセトン：*n*-ヘキサン(1:1)混液で調製したネイティブ体の OPFRs 混合標準溶液(50 ng/mL) 2 mL に溶解し、予めアセトン：*n*-ヘキサン(1:1)混液 10 mL でコンディショニングした PSA 固相ミニカラムに負荷した。アセトン：*n*-ヘキサン(1:1)混液 1 mL で 2 回洗い込みを行った後、アセトン：*n*-ヘキサン(1:1)混液 5 mL で溶出した。回収した負荷液および溶出液を窒素気流下乾固後、メタノールで溶解してクリーンアップスパイク用の標準物質を各 100 ng 添加後 10 mL にしたものを LC-MS/MS 測定溶液とした。

3-2. 試験溶液の調製

試料は、サーモン、玄米、牛乳、令和 5 年度に福岡県で調製したトータルダイエット(TD)試料の 1 群(米・米加工品)、12 群(乳・乳製品)とした。試料約 10 g をガラス製の遠沈管に量り採り、クリーンアップスパイクを各 50 ng 添加した後、アセトニトリル 20 mL(玄米試料は蒸留水 10 mL を加えて静置した後、アセトニトリル 20 mL)を加えてホモジナイズ(10,000 rpm, 2 分間)した。1 g の塩化ナトリウムおよび 4 g の硫酸ナトリウム(無水)を加えて塩析、脱水を行った後、遠心分離した(4,000 rpm, 10min)。上澄み液を回収し、約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物をアセトン：シクロヘキサン(2:8)混液 10 mL に溶解し、遠心分離(4,000 rpm, 10 分間)して得られた上澄み液を GPC に供した。注入後 9～21 分の画分を約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を除去した。玄米および牛乳試料は、残留物をメタノールに溶解して、シリンジスパイクを各 10 ng 添加後 10 mL にしたものを LC-MS/MS 測定溶液とした。サーモン試料は、残留物をアセトン：*n*-ヘキサン(1:1)混液 2 mL に溶解し、予めアセトン：*n*-ヘキサン(1:1)混液 10 mL でコンディショニングした PSA 固相ミニカラムに負荷した。アセトン：*n*-ヘキサン(1:1)混液 1 mL で 2 回洗い込みを行った後アセトン：*n*-ヘキサン(1:

1)混液 5 mL で溶出した。回収した負荷液および溶出液を窒素気流下乾固後、メタノールで溶解して、シリンジスパイクを各 10 ng 添加した後、10 mL にしたものを LC-MS/MS 測定溶液とした。

3-3. ブランク試験

試料を用いずに、3-2 に従って試験溶液を調製した。

3-4. 添加回収試験

試料は、サーモン、玄米および牛乳とした。試料約 10 g をガラス製の遠沈管に量り採り、ネイティブ体の OPFRs 標準物質を各 200 ng を添加した後、3-2 に従って試験溶液を調製した。

3-5. OPFRs の測定条件

OPFRs の LC-MS/MS 測定条件は表 3-1 に、SRM 条件は表 3-2 に示した。

3-6. OPFRs の測定

18 種の OPFRs ネイティブ体および 9 種の OPFRs 安定同位体ラベル化体について、それぞれ混合標準溶液(アセトニトリル溶液)を調製した。ネイティブ体とラベル化体の混合標準液を用いメタノールにて順次希釈して 0.05～10 ng/mL の範囲で 8 点の検量線用混合標準液を調製し LC-MS/MS にて測定を行った。なお、ラベル化体は、1 ng/mL となるように検量線用混合標準溶液に加えた。定量は内部標準法により行った。

3-7. 検出下限値

ブランクが認められた OPFRs については、ブランク(*n*=5)の標準偏差の 3 倍に相当する量を検出下限値として求めた。ブランクを認めない物質は近傍のノイズの(最大値－最小値)×(2/5)をノイズ幅(N)として、シグナル(S)を N で除した S/N が 3 以上となる量を求めた。

C. 研究結果及び考察

1. PSA 固相ミニカラムの検討

OPFRs の PSA 固相ミニカラムからの溶出状況を表 4 に示した。画分 1 における OPFRs の回収率は 75.5～106.3%、画分 2 における OPFRs の回収率は 0.01～1.9%となった。以上のことから溶出量 5 mL で OPFRs の殆どが溶出されていると考えられた。

サーモン試料を用いて、PSA ミニ固相カラムからの回収率を評価した結果を表 5 に示した。回収率(内部標準法)は、83.1～105.6%となり、良好な結果が得られた。以上のことから、OPFRs の一斉分析において、PSA 固相カラムによる精製が可能であることが確認された。

2. 検出下限値

OPFRs の標準溶液の定量イオンの SRM クロマトグラムを図 1～18 の a)に、ブランク試験溶液における定量イオンの SRM クロマトグラムを図 1～18 の b)に示した。ブランク試験溶液から TEP、TCEP、TCPP、TDCPP、TBP、TBEP、T4iPPHP および TEHP を検出した。

推定した OPFRs の検出下限値を表 6 に示した。また、耐容一日摂取量(TDI)が示されている OPFRs については、TD 調査において当該物質が検出下限値で含まれていると仮定し、摂取量を試算した(表 7)。試算された摂取量は TDI と比較して十分に低い値であったことから、少なくともこれらの OPFRs については、TD 調査において TDI との比較を行う上で、概ね適切な検出下限値であると考えられた。

3. 添加回収試験

添加回収試験における各 OPFRs の定量イオンの SRM クロマトグラムを図 1～18 の c)～e)に示した。妨害ピークはなく良好なクロマトグラムが得られた。

OPFRs の添加回収試験の結果を表 8 に示した。回収率は内部標準法により算出した。定量に用いた検量線の決定係数は 0.994～1.000 の範囲であり、良好な直線性が得られた。OPFRs の回収率はサーモン(GPC+PSA 精製):75～120

%、サーモン(GPC のみ):72～109%、玄米:59～112%、牛乳:56～134%であった。玄米の T35DMPPHP、牛乳の T35DMPPHP、TEHP を除いて 70～120%の回収率が得られ、概ね良好な結果となった。サーモンの添加回収試験の併行精度は、GPC+PSA 精製:0.4～6.5%、GPC のみ:0.5～18%であった。PSA 固相カラム精製を追加することによって、一部の OPFRs (TDBPP、EHDPHP および TEHP)について精度の向上が見られた。

また、クリーンアップスパイクの回収率は、サーモン(GPC+PSA 精製):52～96%、サーモン(GPC のみ):47～114%、玄米:69～96%、牛乳:61～90%であった。食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン¹⁵⁾に記載されている目標値(40～120%)を満足した。

4. 食品試料の分析

サーモン、玄米、牛乳、TD-1 群および 12 群を分析した定量結果を表 9 に示した。TCEP が玄米、牛乳、1 群および 12 群(図 2 f)～i)から、TBP が玄米および 1 群(図 8 f)、g)から、EHDPHP が 12 群(図 13 f)から検出下限を超えて検出された。TCEP は環境中からの検出事例が報告されている¹⁶⁾。TBP は室内環境から精白米へ移行した事例⁹⁾もあることから、OPFRs は環境中から食品へと移行している可能性が示唆された。

D. 結論

本年度は PSA 固相ミニカラムによる精製の追加検討を行った上で、OPFRs 一斉分析法の検出下限値の推定、添加回収試験を実施した。

PSA 固相ミニカラムによる精製について検討した。その結果、PSA 固相カラムは、OPFRs を損失することなく精製が可能であり、OPFRs の一斉分析法に適用可能であった。また、推定した OPFRs の検出下限値については、TD 調査において TDI との比較を行う上で概ね適切であると考えられた。

サーモン、玄米、牛乳を用いて添加回収試験を行った結果、玄米の T35DMPPPhP、牛乳の T35DMPPPhP、TEHP を除いて 72～120%の回収率が得られ、概ね良好な結果となった。

サーモン、玄米、牛乳、TD-1 群(米・米加工品)および 12 群(乳・乳製品)を分析した結果、TCEP、TBP および EHDPPhP が検出下限を超えて検出され、OPFRs は環境中から食品へと移行している可能性が示唆された。

今後、摂取量推定のため TD 試料の分析を実施する際には、多様な食品に対応する必要がある。特に油脂を多く含む食品については、抽出溶媒によっては OPFRs の抽出効率が大きく変わることも懸念されるため、分析法の適用性を検証する際には注意が必要である。

E. 参考文献

- 1) 松神秀徳、戸舘侑孝、Sicco H. BRANDSMA、Pim E.G. LEONARDS、滝上英孝、リン酸エステル系難燃剤の定量分析法の開発と国際相互検定研究による検証．環境化学 (2014)24(2),41-49.
- 2) van der Veen I., de Boer J. Phosphorus flame retardants: Properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis. Chemosphere (2012) 88, 1119-1153.
- 3) He C., Zheng J., Qiao L., Chen S., Yang J., Yuan J., Yang Z., Mai B., Occurrence of organophosphorus flame retardants in indoor dust in multiple microenvironments of southern China and implications for human exposure. Chemosphere (2015) 133, 47-52.
- 4) 山崎隆博、吉川昌範. 福井県内の河川におけるリン酸エステル系難燃剤の実態について. 福井県衛生環境研究センター年報 (2017) 16, 57-59.
- 5) 宮尻久美、坂 雅宏. リン酸エステル系難燃剤分析法の精度と京都府南部河川水を試料とした本法の適用結果について. 京都府保環研年報 (2019) 64, 24-29.
- 6) Chen, M.Q., Gan, Z.W., Qu, B., Chen, S.B., Dai, Y.Y., Bao, X.M., Temporal and seasonal variation and ecological risk evaluation of flame retardants in seawater and sediments from Bohai Bay near Tianjin, China during 2014 to 2017. Mar. Pollut. Bull. (2019) 146, 874-883.
- 7) Zheng, H.Y., Cai, M.H., Yang, C., Gao, Y., Chen, Z.Y., Liu, Y.G., Terrigenous export and ocean currents' diffusion of organophosphorus flame retardants along China's adjacent seas. Environ. Pollut. (2022) 299, 118873.
- 8) Wang, Y., Sun, H.W., Zhu, H.K., Yao, Y.M., Chen, H., Ren, C., Wu, F.C., Kannan, K., Occurrence and distribution of organophosphate flame retardants (OPFRs) in soil and outdoor settled dust from a multi-waste recycling area in China. Sci. Total Environ. (2018) 625, 1056-1064.
- 9) 渡邊美咲、野口実華子、橋本多美子、吉田精作. 室内における有機リン系難燃剤の精白米への吸着. 食品衛生学雑誌 (2019) 60, 159-167.
- 10) Kim J.-W., Isobe T., Muto M., Tue N.M., Katsura K., Malarvannan G., Sudaryanto A., Chang K.-H., Prudente M., Viet P.H., Takahashi S., Tanabe S., Organophosphorus flame retardants (PFRs) in human breast milk from several Asian countries. Chemosphere(2014) 116, 91-97.
- 11) Maddela N.R., Venkateswarlu K., Megharaj M., Tris (2-chloroethyl) phosphate, a pervasive flame retardant: critical perspective on its emissions into the environment and human toxicity. Environ Sci Process Impacts (2020) 22(9), 1809-1827.
- 12) Wang C., Chen H., Li H., Yu J., Wang X., Liu Y., Review of emerging contaminant tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate: Environmental occurrence, exposure, and risks to organisms and human health.

Environment International (2020) 143, 105946.

検討(2). 第 120 回日本食品衛生学会学術講演会 (2024.11)

- 13) 令和 4 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 食品の安全確保推進研究事業「食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発のための研究」分担研究報告書(有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究)
- 14) 令和 5 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 食品の安全確保推進研究事業「食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発のための研究」分担研究報告書(有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究)
- 15) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知“食品中のダイオキシン類測定方法暫定ガイドライン”平成 20 年 2 月 28 日, 食安監発第 0228003 号.
- 16) 加藤みか、西野貴裕、宮沢佳隆、飯田有香、東條俊樹、浅川大地、市原真紀子、大方正倫、松村千里、羽賀雄紀、吉識亮介、梶拓也、長谷川瞳、宮脇 崇、高橋浩司、片宗千春、高澤嘉一. リン酸エステル系難燃剤による国内水環境汚染の実態. 地球環境 (2022) 27(3), 243-252.

F.研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) Tamaki Sato, Kazuhiro Tobiishi, Tsuguhide Hori, Tomoaki Tsutsumi. Simultaneous Measurement Method for Organophosphate Flame Retardants: Comparison of LC-MS/MS and GC-MS/MS, 44th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (2024.9)
- 2) 佐藤 環、飛石和大、堀 就英、堤 智昭: 食品中のリン酸エステル系難燃剤の一斉分析法の

表 1 分析対象とした OPFRs

Compound name	Abbreviation	CAS RN	Formula	Log Pow	Monoisotopic mass
Triethyl phosphate	TEP	78-40-0	C ₆ H ₁₅ O ₄ P	0.80	182.0708
Tripropyl phosphate	TPrP	513-08-6	C ₉ H ₂₁ O ₄ P	1.87	224.1178
Tributyl phosphate	TBP	126-73-8	C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P	4.00	266.1647
Tris(2-chloroethyl) phosphate	TCEP	115-96-8	C ₆ H ₁₂ Cl ₃ O ₄ P	1.44	283.9539
Tris(1-chloro-2-propanyl) phosphate	TCPP	13674-84-5	C ₉ H ₁₈ Cl ₃ O ₄ P	2.59	326.0008
Triphenyl phosphate	TPhP	115-86-6	C ₁₈ H ₁₅ O ₄ P	4.59	326.0708
2-ethylhexyl diphenyl phosphate	EHDPPhP	1241-94-7	C ₂₀ H ₂₇ O ₄ P	5.73	362.1647
Tris(2-methylphenyl) phosphate	ToTP	78-30-8		5.11	
Tris(3-methylphenyl) phosphate	TmTP	563-04-2	C ₂₁ H ₂₁ O ₄ P	6.34	368.1177
Tris(4-methylphenyl) phosphate	TpTP	78-32-0		6.34	
Tris(2-butoxyethyl)phosphate	TBEP	78-51-3	C ₁₈ H ₃₉ O ₇ P	3.75	398.4718
Tris(3,5-dimethylphenyl)phosphate	T35DMPhP	25155-23-1	C ₂₄ H ₂₇ O ₄ P	7.98	410.1647
Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate	TDCPP	13674-87-8	C ₉ H ₁₅ Cl ₆ O ₄ P	3.65	427.8839
Tris(2-ethylhexyl)phosphate	TEHP	78-42-2	C ₂₄ H ₅₁ O ₄ P	9.49	434.3525
Tris(2-isopropylphenyl)phosphate	T2iPPhP	64532-95-2		9.07	
Tris(3-isopropylphenyl)phosphate	T3iPPhP	72668-27-0	C ₂₇ H ₃₃ O ₄ P	8.30	452.2116
Tris(4-isopropylphenyl)phosphate	T4iPPhP	26967-76-0		7.40	
Tris(2,3-dibromopropyl)phosphate	TDBPP	126-72-7	C ₉ H ₁₅ Br ₆ O ₄ P	4.29	691.5807

表 2 GPC 条件

LC Pump	SHIMADZU LC-20AD
Degasser	SHIMADZU DGU-20A
Column	Shodex CLNpak EV-2000 AC (20.0×300 mm, 16 μm) + EV-G AC (20.0×100 mm, 16 μm)
Column temperature	40 °C
Injection volume	2 mL
Mobile phase	Acetone:Cyclohexane(2:8)
Flow rate	5 mL/min

表 3-1 LC-MS/MS 測定条件

LC conditions	
LC	Waters Acquity UPLC H-Class Plus Binary
Column	Waters Acquity UPLC BEH C18 (2.1×100 mm, 1.7 μm)
Column temperature	40 °C
Injection volume	2 μL
Mobile phase	A: Water
	B: Methanol
	A/B : 35/65 (20 min) — 15 min — 0/100 (6 min) — 0.1 min — 35/65 (3.9 min)
Flow rate	0.2 mL/min
MS condition	
MS	Waters Xevo TQ-XS
Ionization mode	ESI-Positive
Scan type	SRM
Desolvation temperature	400 °C
Capillary voltage	3.0 kV

表 3-2 MS/MS 条件 (LC-MS/MS)

Target compounds	Retention time (min)	Cone Voltage (V)	Transition <i>m/z</i>	Collision energy (eV)	Surrogate
TEP	1.7	16	183.2>127.0	12	TEP- <i>d</i> ₁₅
			183.2>98.9	16	
			183.2>155.0	8	
TCEP	1.9	32	285.0>98.9	24	TCEP- <i>d</i> ₁₂
			285.0>160.8	18	
			285.0>222.9	14	
TCPP	3.6	4	327.0>98.9	24	TPrP- <i>d</i> ₂₁
			327.0>174.9	14	
			327.0>80.8	58	
TPrP	3.6	22	225.3>98.9	18	TPrP- <i>d</i> ₂₁
			225.3>140.9	10	
			225.3>183.0	8	
TDCPP	7.2	40	431.0>99.0	26	TDCPP- <i>d</i> ₁₅
			431.0>209.1	14	
			431.0>321.1	12	
TPhP	7.5	36	327.0>152.0	32	TPhP- ¹³ C ₁₈
			327.0>251.0	28	
			327.0>214.9	26	
TDBPP	10.1	50	698.5>99.0	34	TDCPP- <i>d</i> ₁₅
			698.5>299.0	20	
			698.5>200.9	38	
TBP	12.2	30	267.1>98.8	18	TBP- <i>d</i> ₂₇
			267.1>154.9	10	
			267.1>211.0	8	
TBEP	17.1	34	399.3>199.0	16	TBEP- ¹³ C ₆
			399.3>142.9	18	
			399.3>82.9	18	
ToTP	24.2	46	369.2>165.0	44	TBEP- ¹³ C ₆
			369.2>90.9	34	
			369.2>166.0	44	
TmTP	25.4	24	369.2>165.1	42	TBEP- ¹³ C ₆
			369.2>90.9	34	
			369.2>243.0	28	
TpTP	25.8	70	369.2>165.0	44	TBEP- ¹³ C ₆
			369.2>90.9	42	
			369.2>243.0	28	
EHDPHP	28.1	22	363.2>251.0	14	TBEP- ¹³ C ₆
			363.2>152.8	32	
			363.2>214.9	34	
T35DMPHP	31.3	76	411.3>194.0	28	T4iPPHP- ¹³ C ₁₈
			411.3>179.0	40	
			411.3>105.0	34	
T2iPPHP	31.8	54	453.2>327.1	28	T4iPPHP- ¹³ C ₁₈
			453.2>369.3	20	
			453.2>411.3	16	
T3iPPHP	32.6	70	453.2>327.1	34	T4iPPHP- ¹³ C ₁₈
			453.2>369.3	26	
			453.2>411.3	22	
T4iPPHP	32.9	76	453.2>327.1	32	T4iPPHP- ¹³ C ₁₈
			453.2>369.3	26	
			453.2>411.3	22	
TEHP	35.2	26	435.4>98.8	12	T4iPPHP- ¹³ C ₁₈
			435.4>71.0	12	
			435.4>211.0	8	

表 3-2 MS/MS 条件 (LC-MS/MS) (つづき)

Labeled target compounds	Retention time (min)	Cone Voltage (V)	Transition <i>m/z</i>	Collision energy (eV)	
TEP- <i>d</i> ₁₅	1.7	26	198.2>102.0 198.2>134.1	16 12	Cleanup spike
TCEP- <i>d</i> ₁₂	1.8	32	297.1>102.0 297.1>130.1	30 14	Cleanup spike
TPrP- <i>d</i> ₂₁	3.4	22	246.3>102.0 246.3>150.1	18 12	Cleanup spike
TDCPP- <i>d</i> ₁₅	6.9	40	446.1>102.0 446.1>332.2	24 12	Cleanup spike
TPhP- ¹³ C ₁₈	7.5	5	345.2>164.2 345.2>227.2	44 26	Cleanup spike
TBP- <i>d</i> ₂₇	11.3	26	294.4>102.0 294.4>230.4	20 10	Cleanup spike
TBEP- ¹³ C ₆	17.1	48	405.4>303.3 405.4>201.1	12 16	Cleanup spike
TPhP- <i>d</i> ₁₅	7.1	44	342.2>81.9 342.2>175.9	40 38	Syringe spike

表 4 OPFRs の PSA 固相ミニカラムからの溶出状況

Compounds	(%)	
	Fraction 1	Fraction 2
TEP	97.9	0.2
TCEP	94.8	0.5
TPrP	94.2	0.1
TCPP	96.6	1.9
TDCPP	96.9	0.4
TPhP	99.7	0.4
TDBPP	99.5	0.1
TBP	101.0	0.3
TBEP	97.7	0.2
ToTP	100.1	0.0
TmTP	94.7	0.2
TpTP	105.1	0.1
EHDPhP	106.3	0.1
T35DMPPhP	75.5	0.1
T2iPPPhP	102.0	0.1
T3iPPPhP	102.0	0.1
T4iPPPhP	103.8	0.5
TEHP	91.3	0.1

表 5 サーモン試料における PSA ミニ固相カラムからの回収率

Compounds	Internal Standard Method	Absolute Calibration Method	
	Recovery (%)	Recovery (%)	Matrix Standard /Standard
TEP	83	79	1.01
TCEP	103	81	0.90
TPrP	96	93	1.02
TCPP	98	94	1.01
TDCPP	106	93	0.98
TPhP	105	95	1.00
TDBPP	104	91	0.97
TBP	99	97	1.03
TBEP	100	98	1.02
ToTP	96	94	1.02
TmTP	100	98	1.00
TpTP	96	95	0.97
EHDPhP	96	94	0.98
T35DMPPhP	102	82	0.87
T2iPPPhP	98	79	0.79
T3iPPPhP	85	68	0.69
T4iPPPhP	101	81	0.78
TEHP	103	83	0.80

表 6 OPFRs の検出下限値

Compounds	Blank	GPC	GPC+PSA
		ng/g	ng/g
TEP	○	0.9820	0.2171
TCEP	○	0.2387	0.1865
TPrP		0.0023	0.0017
TCPP	○	0.8793	0.7177
TDCPP	○	0.1013	0.1028
TPhP		0.0747	0.1188
TDBPP		0.0038	0.0041
TBP	○	0.0909	0.0717
TBEP	○	0.0107	0.0082
ToTP		0.0128	0.0137
TmTP		0.0108	0.0098
TpTP		0.0065	0.0069
EHDPhP		0.0038	0.0037
T35DMPPhP		0.0004	0.0004
T2iPPhP		0.0035	0.0028
T3iPPhP		0.0054	0.0069
T4iPPhP	○	0.0177	0.0164
TEHP	○	0.0081	0.0116

表 7 検出下限値相当濃度における OPFRs 摂取量の試算

Compounds	GPC		GPC+PSA		TDI (mg/kg/day)
	Intake* (mg/kg/day)	%	Intake* (mg/kg/day)	%	
TEP	0.00004	0.004	0.00001	0.001	1.000
TCEP	0.00001	0.00002	0.000008	0.00002	0.022
TCPP	0.00004	0.0001	0.00003	0.0001	0.036
TDCPP	0.000005	0.000007	0.000005	0.000007	0.0153
TPhP	0.000003	0.00005	0.000005	0.00009	0.161
TBP	0.000004	0.000004	0.000003	0.000003	0.009
TBEP	0.0000005	0.0000007	0.0000004	0.0000006	0.015
ToTP	0.0000006	0.0000003	0.0000006	0.0000003	0.005
TmTP	0.0000005	0.0000002	0.0000004	0.0000002	0.005
TpTP	0.0000003	0.0000001	0.0000003	0.0000002	0.005

*Calculated based on body weight of 50 kg and daily intakes of 316.1 g (group1), 151.5 g (group2), 31.0 g (group3), 10.6 g (group4), 60.4 g (group5), 85.6 g (group6), 87.3 g (group7), 194.0 g (group8), 665.5 g (group9), 58.2 g (group10), 145.7 g (group11), 119.1 g (group12), 65.3 g (group13) and 250 g (group14)

表 8 OPFRs の添加回収試験結果

Compounds	Salmon(GPC+PSA)		Salmon (GPC)		Brown rice	milk
	Recovery (%)	%RSD*	Recovery (%)	%RSD*	Recovery (%)	Recovery (%)
TEP	98	0.4	96	1.7	107	107
TCEP	96	1.2	94	1.4	105	107
TPrP	95	1.1	97	0.8	105	105
T CPP	98	1.6	83	1.9	106	106
TDCPP	101	0.6	102	3.1	112	107
TPhP	95	1.2	94	1.7	104	105
TDBPP	106	6.6	109	15.8	78	104
TBP	96	0.6	95	0.5	107	107
TBEP	97	0.5	95	0.8	102	107
ToTP	90	5.3	81	0.5	100	104
TmTP	88	4.0	81	2.7	98	105
TpTP	90	3.1	81	9.6	106	109
EHDPhP	112	4.1	72	17.8	94	102
T35DMPhP	120	3.6	95	1.8	59	134
T2iPPhP	104	4.0	83	5.7	82	114
T3iPPhP	97	5.9	88	8.9	95	112
T4iPPhP	96	1.1	95	4.4	101	107
TEHP	75	4.3	75	12.5	89	56
TEP- <i>d</i> ₁₅	73	4.4	87	10.0	72	72
TCEP- <i>d</i> ₁₂	69	7.5	47	2.5	69	84
TPrP- <i>d</i> ₂₁	90	1.7	106	10.6	92	90
TDCPP- <i>d</i> ₁₅	80	5.2	58	6.0	75	89
TPhP- ¹³ C ₁₈	91	1.3	94	3.3	88	88
TBP- <i>d</i> ₂₇	92	2.3	110	8.4	95	90
TBEP- ¹³ C ₆	96	3.1	114	8.4	96	90
T4iPPhP- ¹³ C ₁₈	52	12.9	50	13.4	71	61

**n* = 3

表 9 食品試料の分析結果

Compounds	(ng/g)				
	Salmon (GPC+PSA)	Brown rice (GPC)	Milk (GPC)	TD-Group1 (GPC)	TD-Group12 (GPC)
TEP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TCEP	<LOD	0.35	0.30	0.35	0.45
TPrP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TCPP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TDCPP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TDBPP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TBP	<LOD	0.50	<LOD	0.10	<LOD
TBEP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
ToTP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TmTP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TpTP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
EHDPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.07
T35DMPPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
T2iPPPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
T3iPPPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
T4iPPPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TEHP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

<LOD:Under the limit of detection

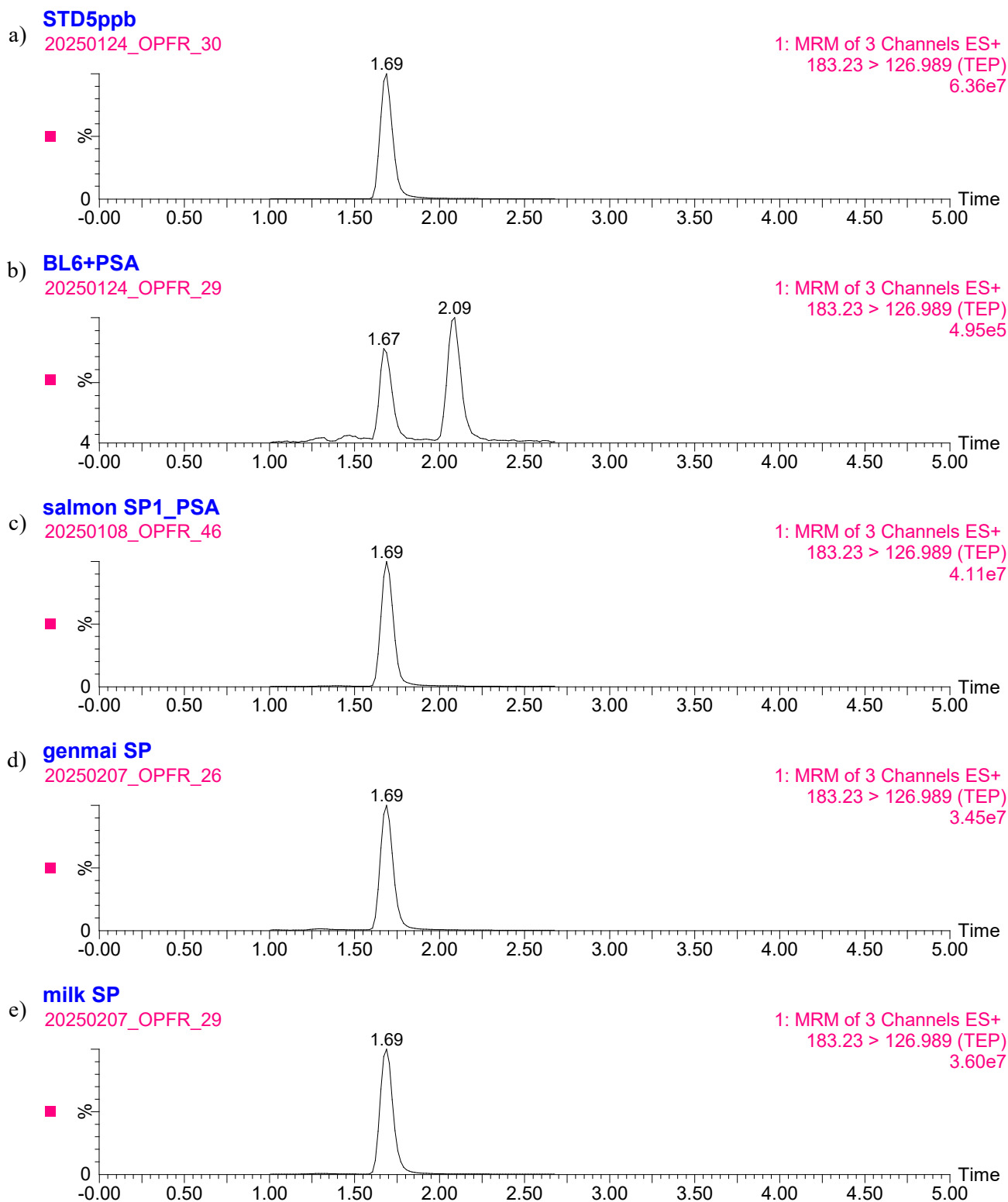


図 1 TEP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

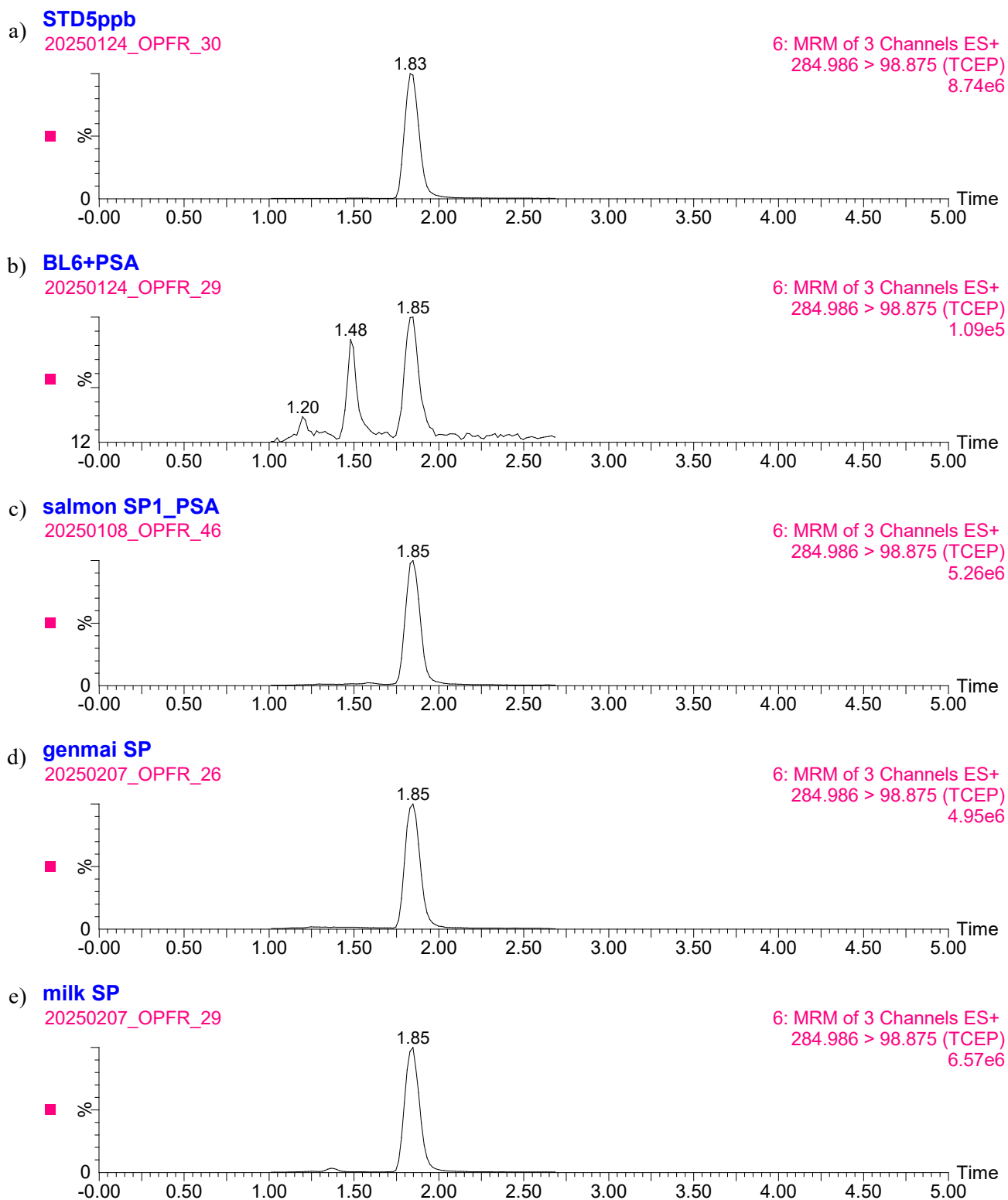


図 2 TCEP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

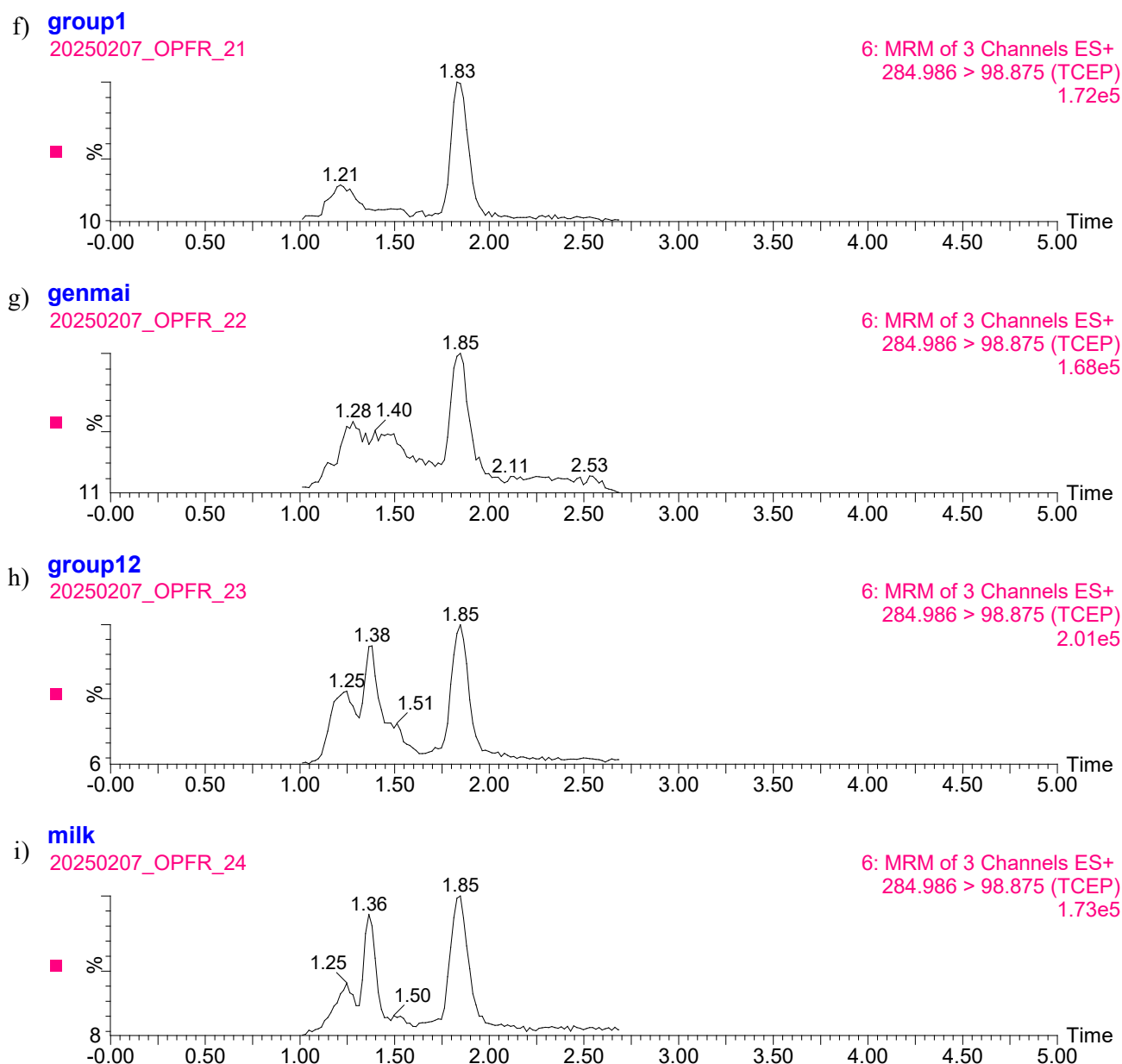


図 2 TCEP の SRM クロマトグラム(つづき)

- f) 試料 (1 群)
- g) 試料 (玄米)
- h) 試料 (12 群)
- i) 試料 (牛乳)

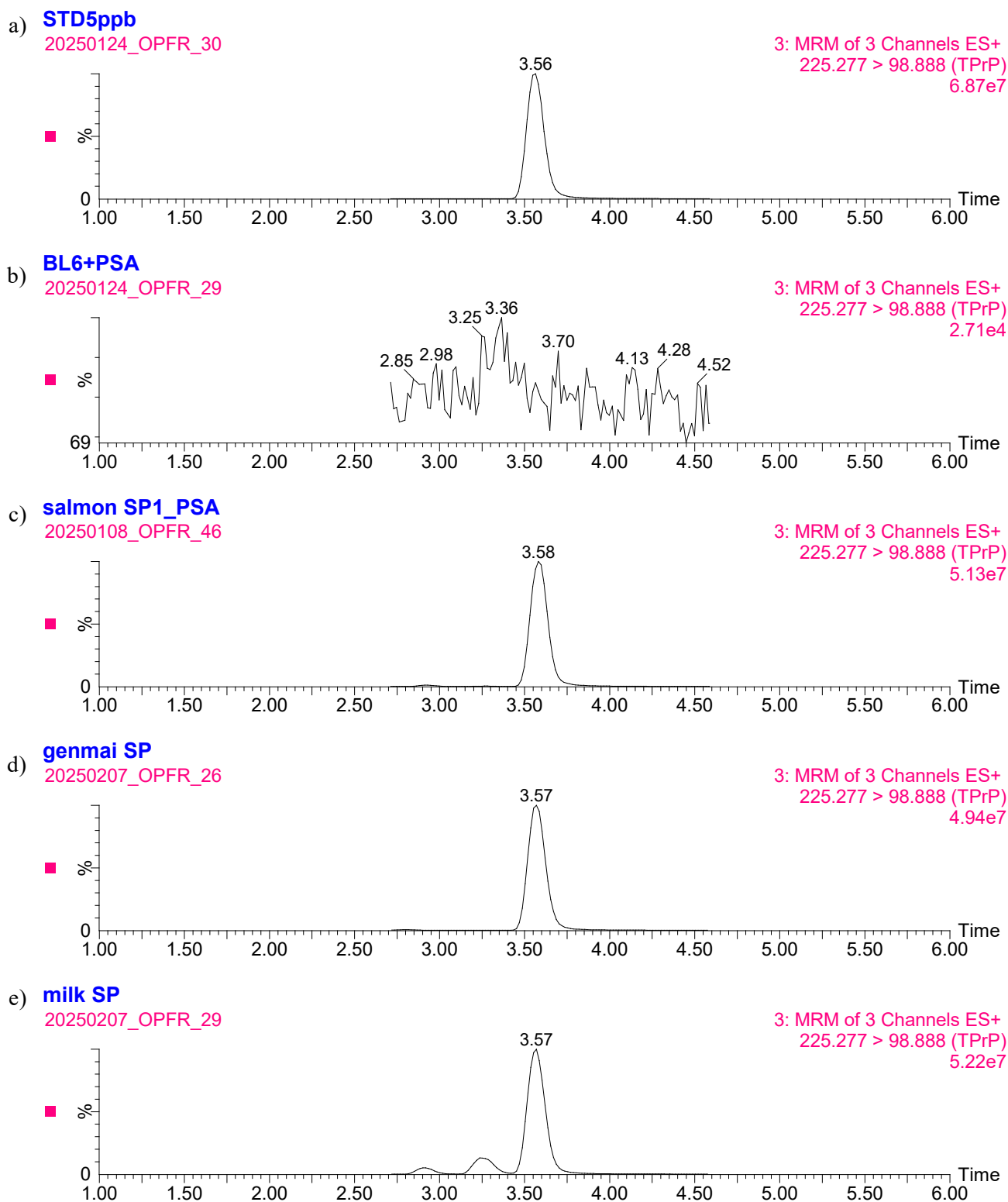


図 3 TPrP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

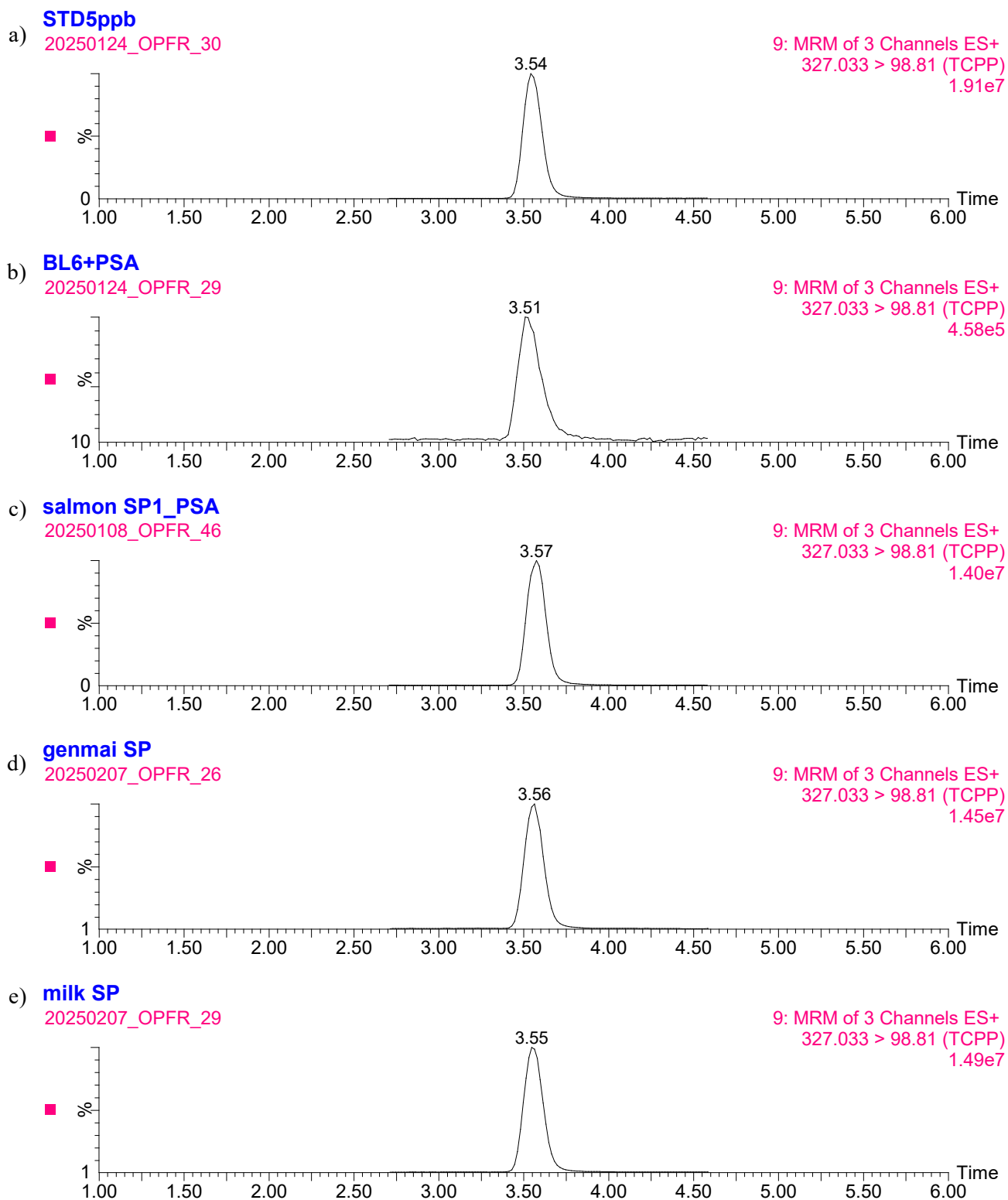


図 4 TCPP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

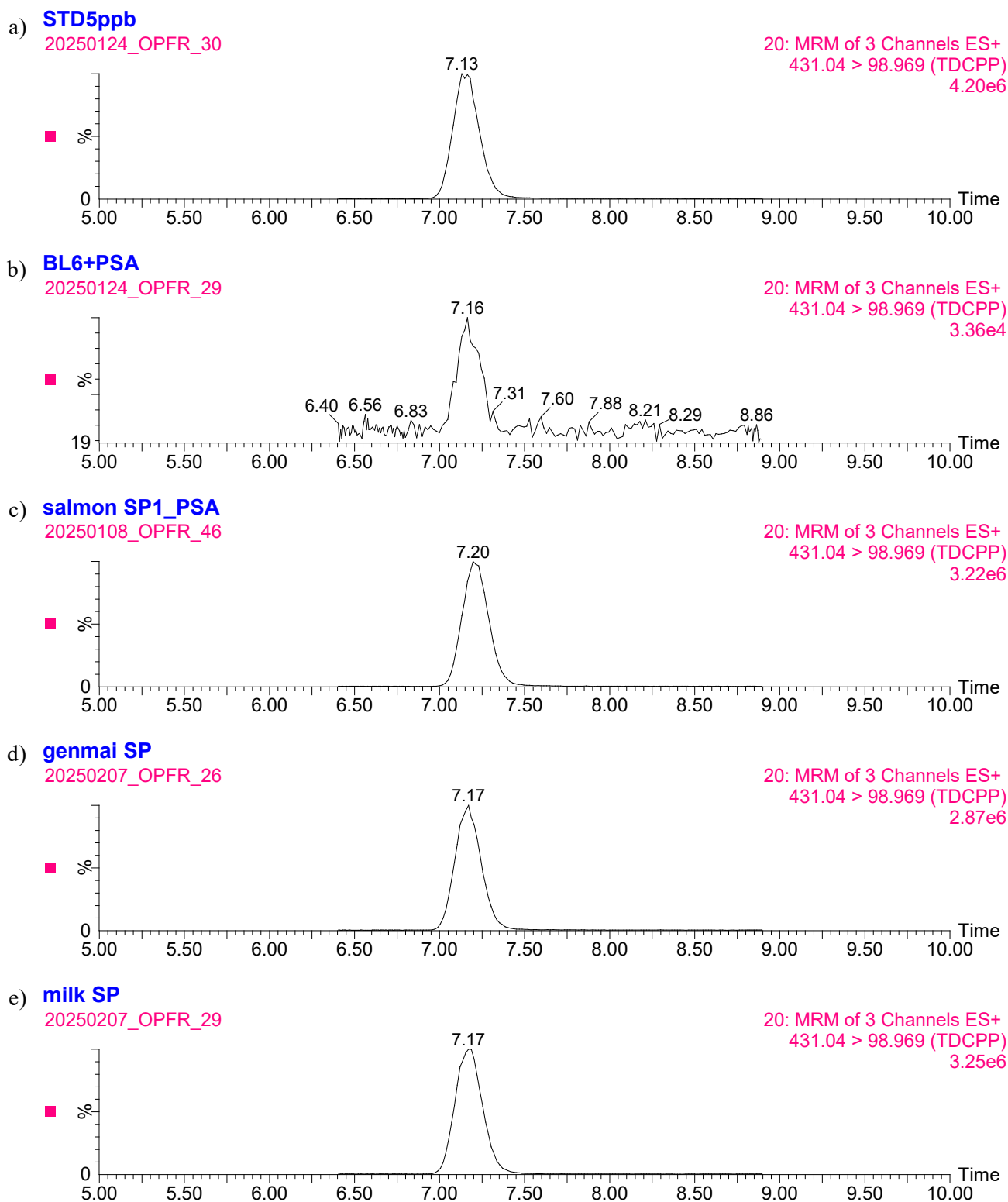


図 5 TDCPP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

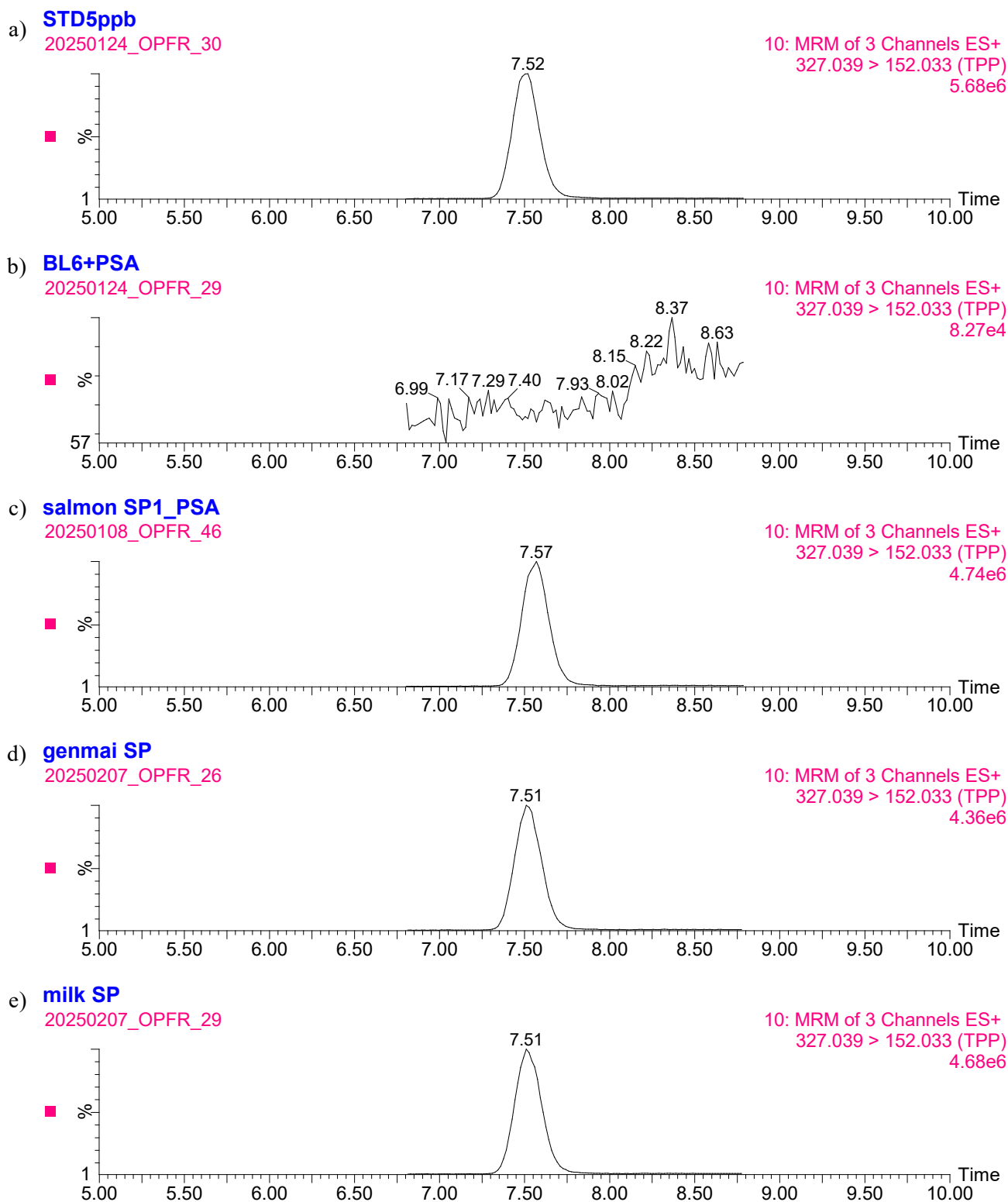


図 6 TPhP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

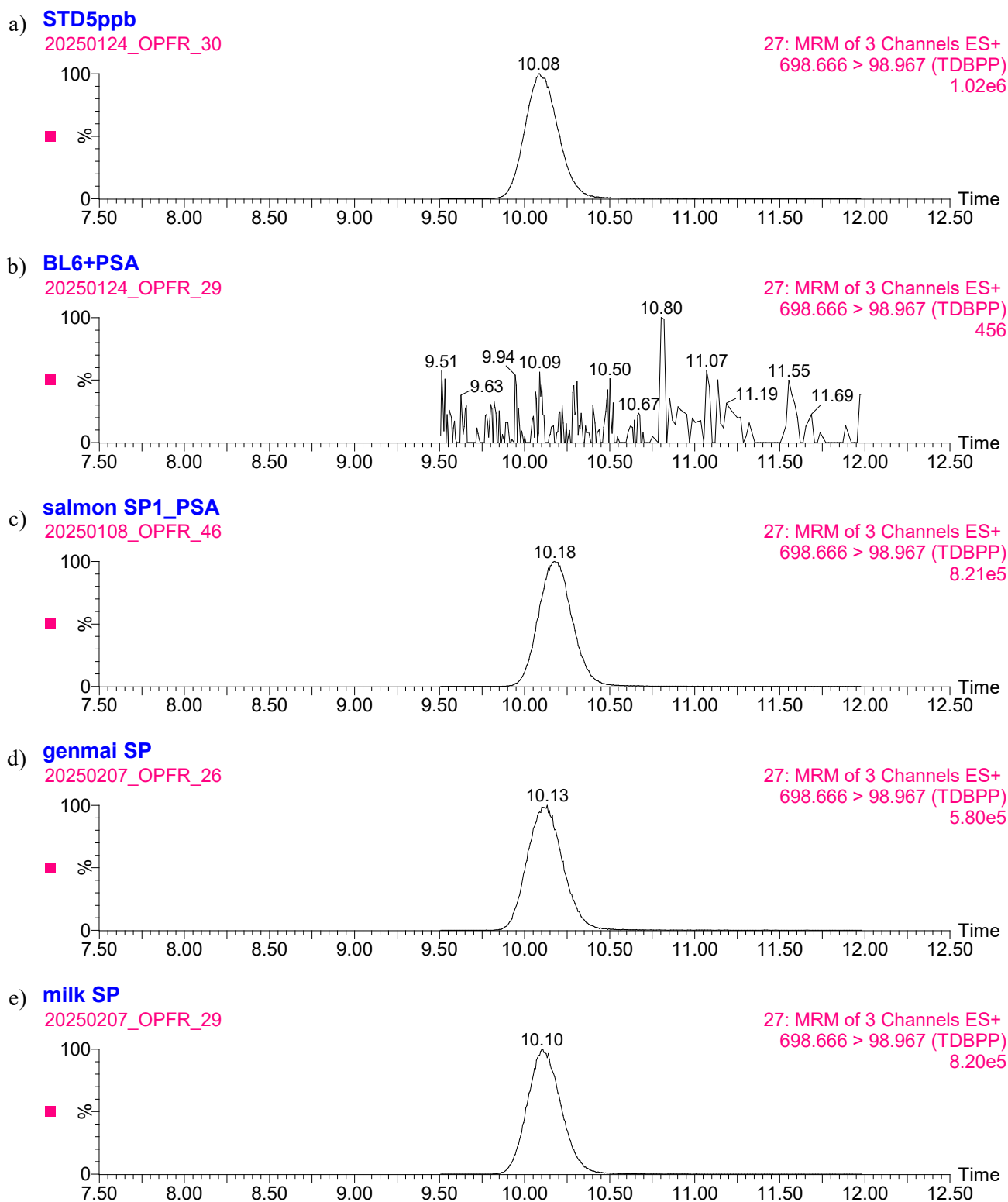


図 7 TDBPP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

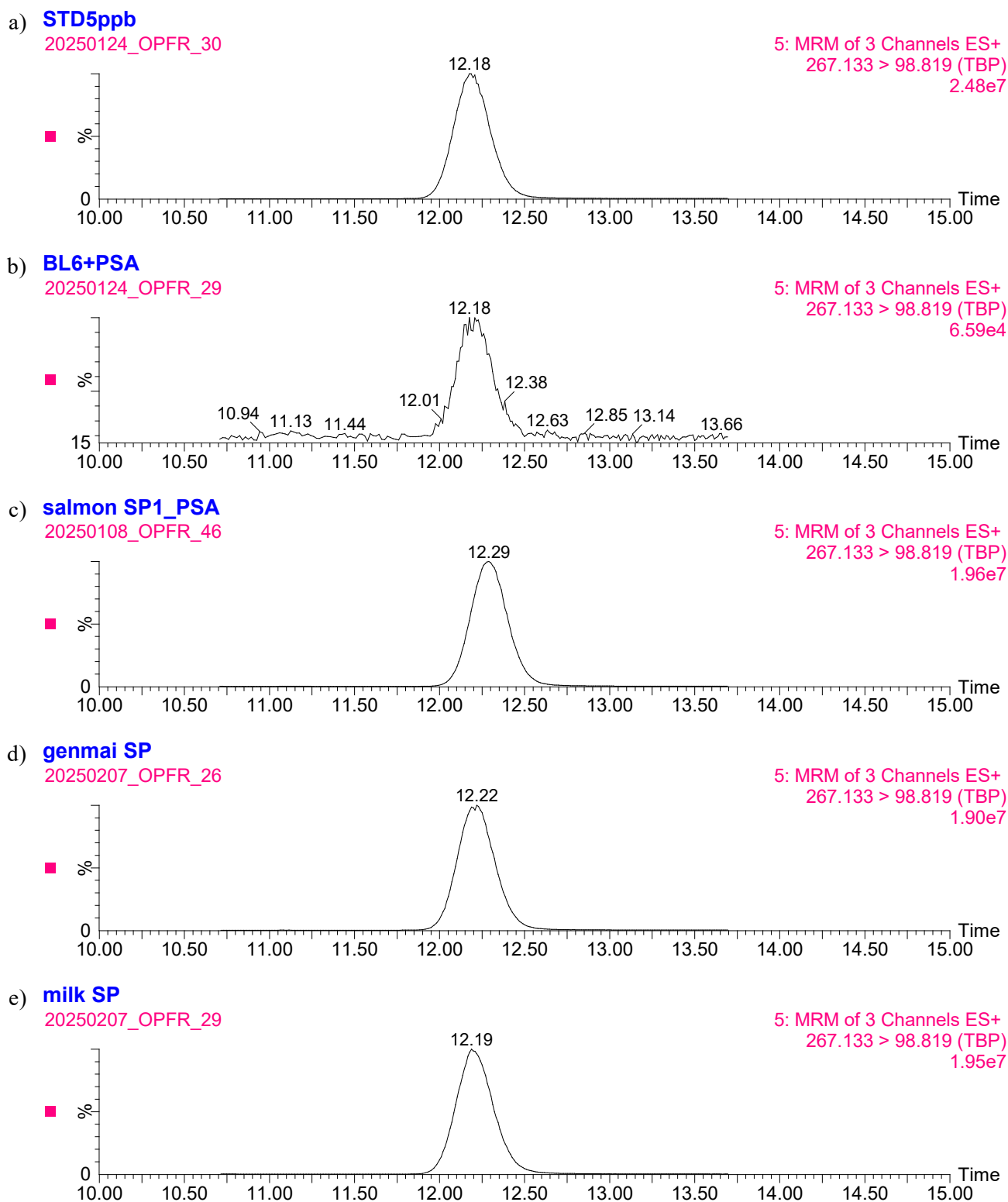


図 8 TBP の SRM クロマトグラム

- a) 標準溶液 (5 ng/mL)
- b) ブランク試料 (GPC+PSA)
- c) 添加回収試料 (サーモン)
- d) 添加回収試料 (玄米)
- e) 添加回収試料 (牛乳)

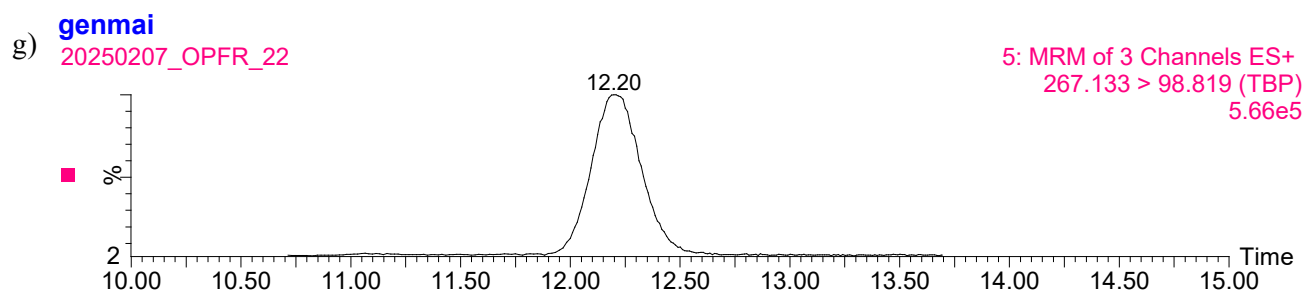
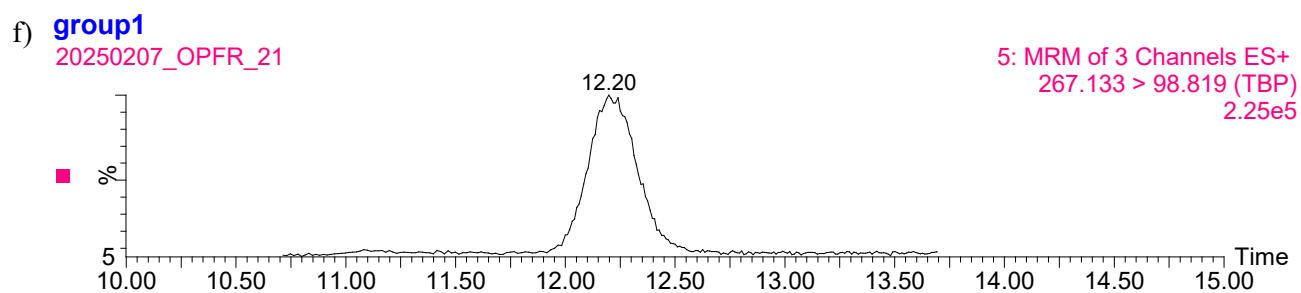


図 8 TBP の SRM クロマトグラム(つづき)

f)試料(1 群)

g)試料(玄米)

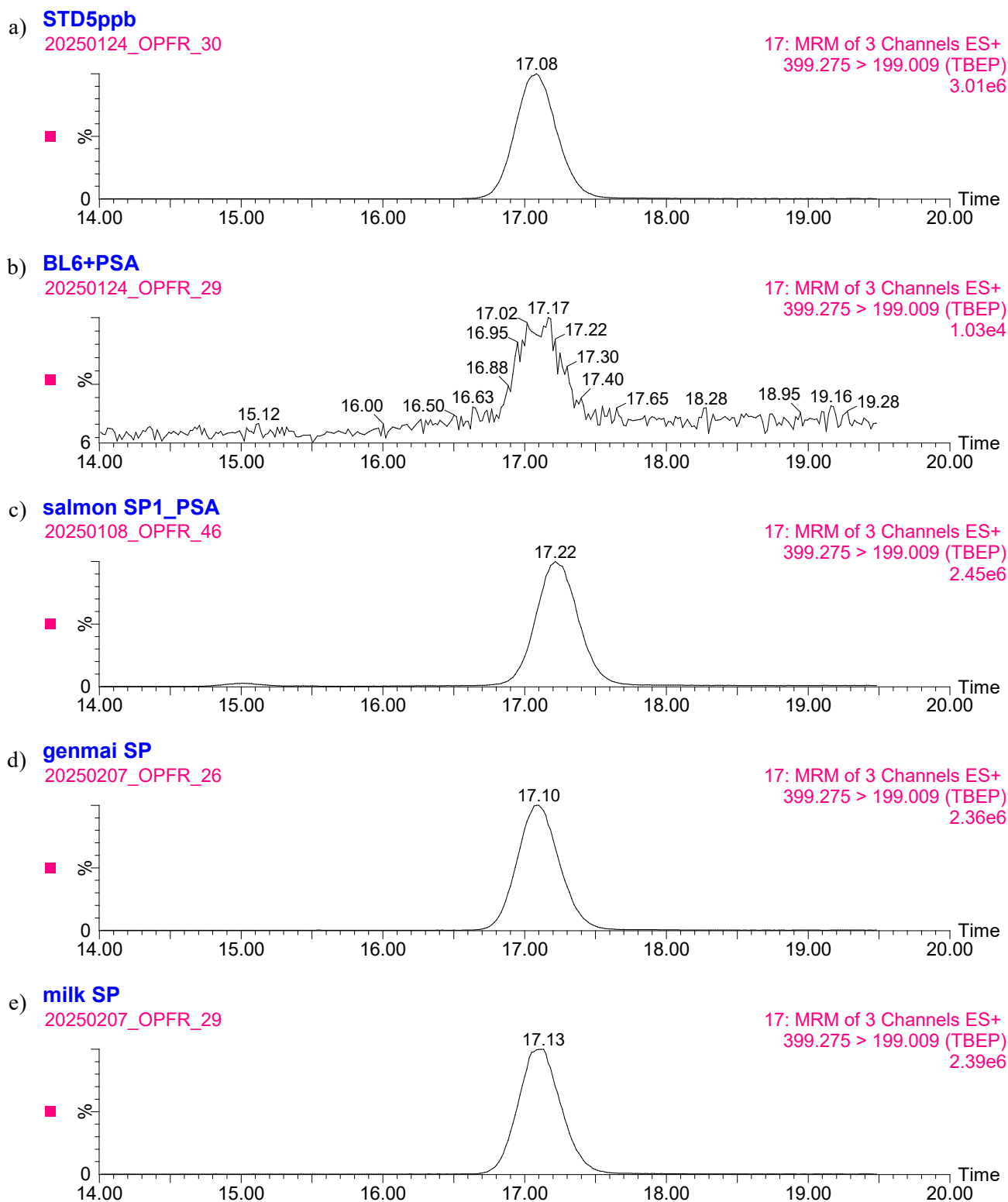


図 9 TBEP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

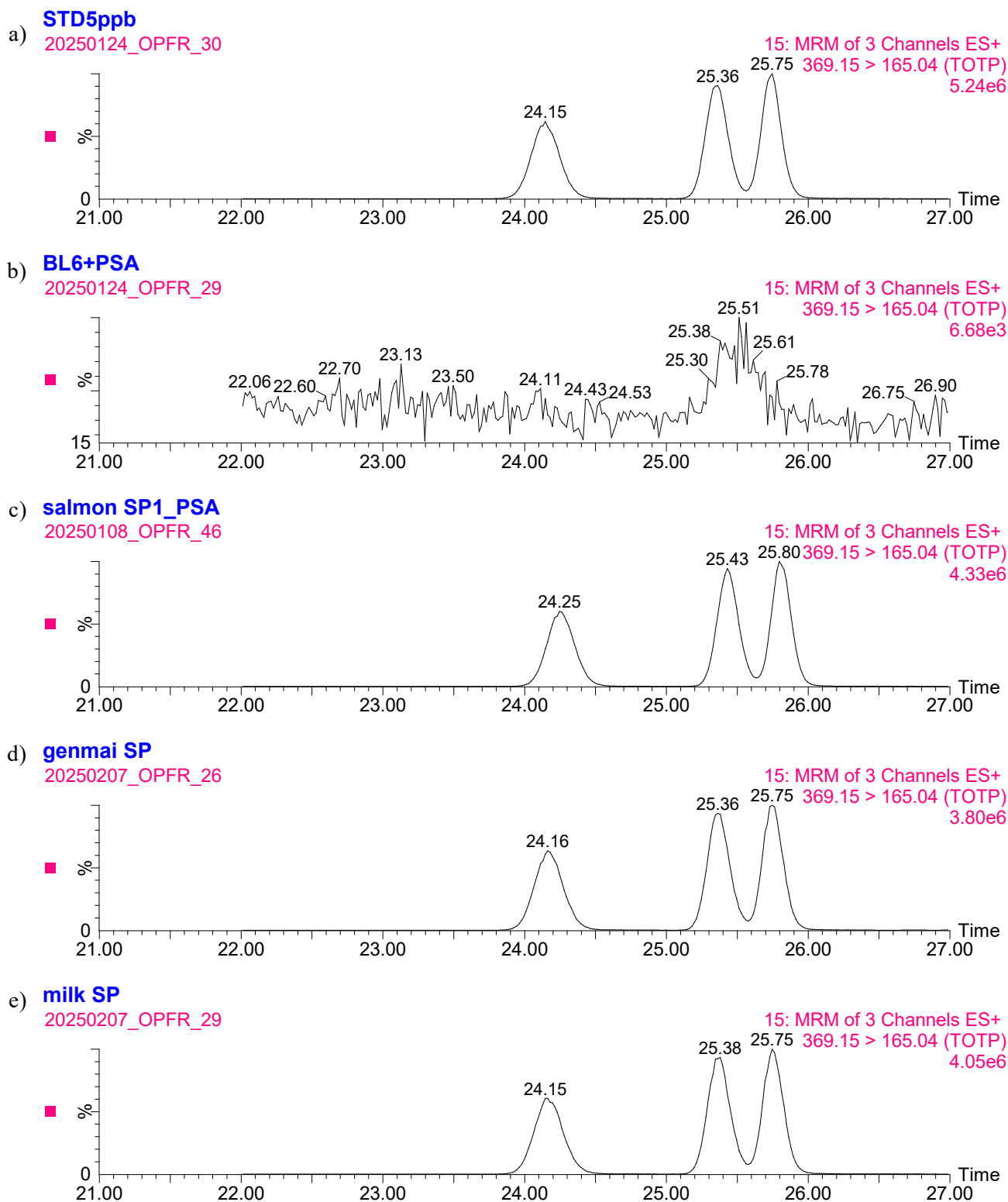


図 10 ToTP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

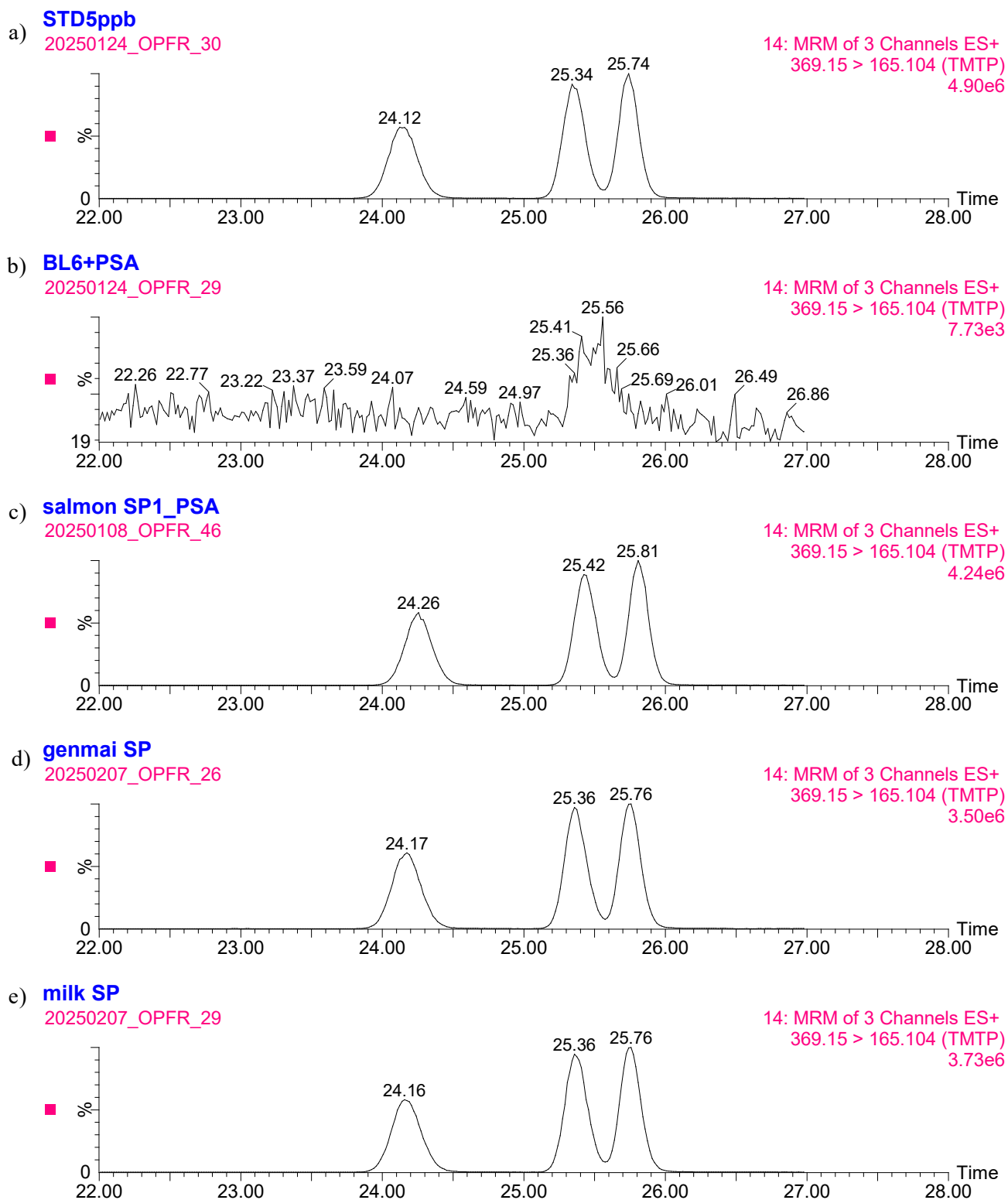


図 11 TmTP の SRM クロマトグラム

- a) 標準溶液 (5 ng/mL)
- b) ブランク試料 (GPC+PSA)
- c) 添加回収試料 (サーモン)
- d) 添加回収試料 (玄米)
- e) 添加回収試料 (牛乳)

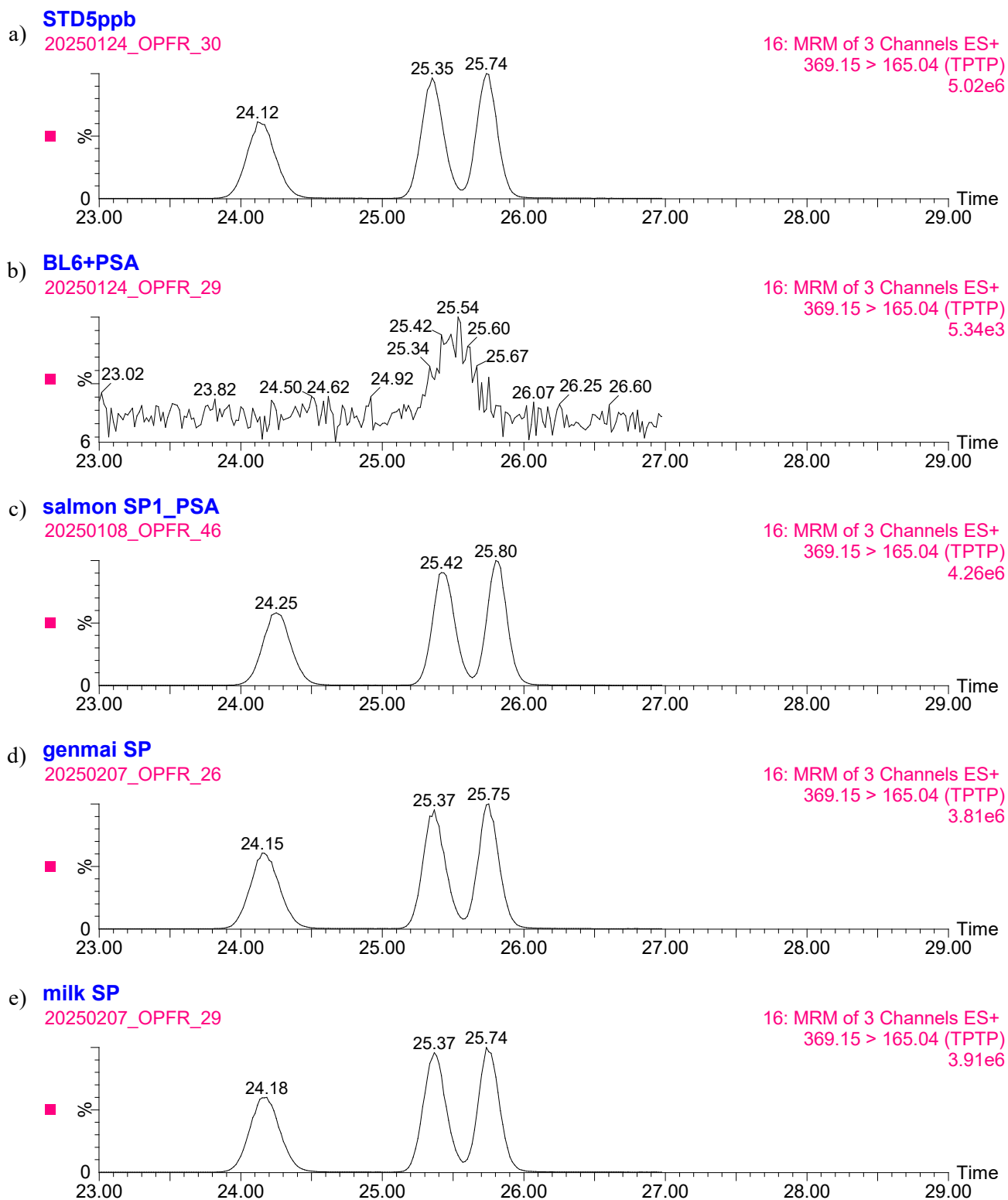


図 12 TpTP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

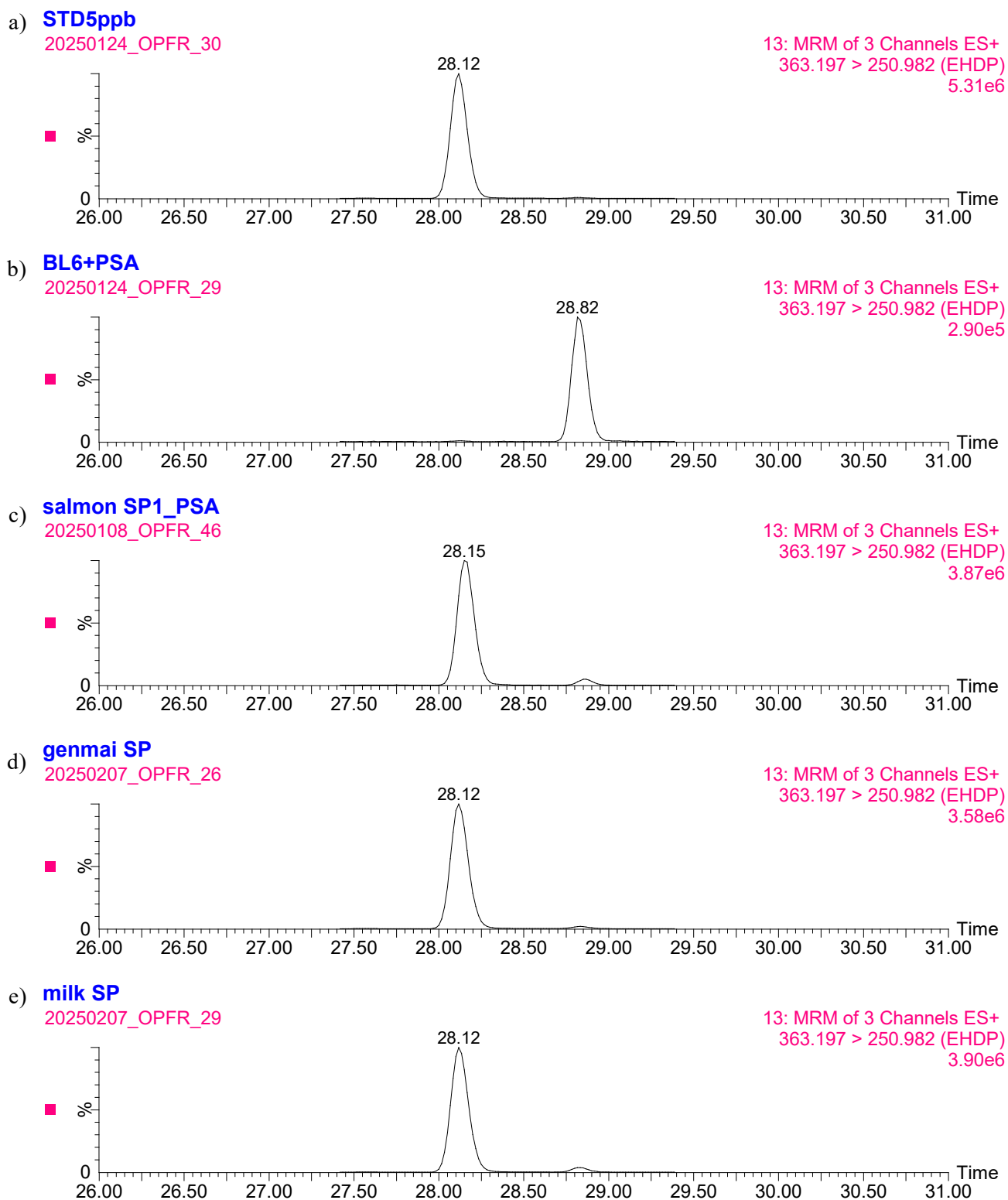


図 13 EHDPの SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

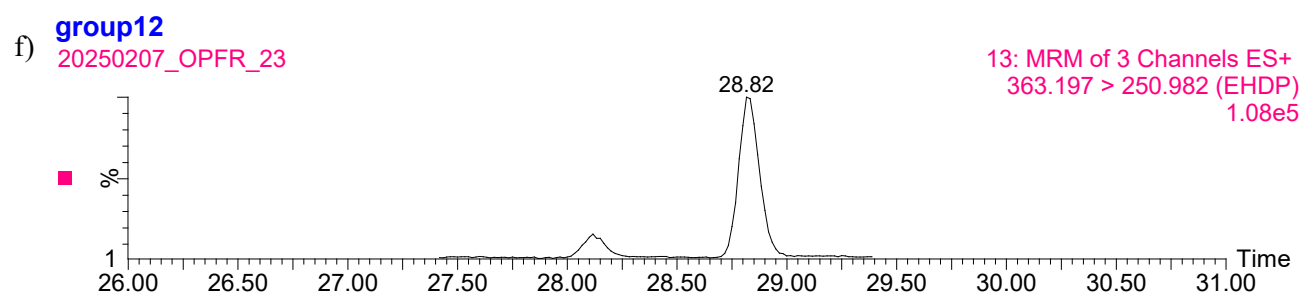


図 13 EHDP の SRM クロマトグラム(つづき)

f) 試料 (12 群)

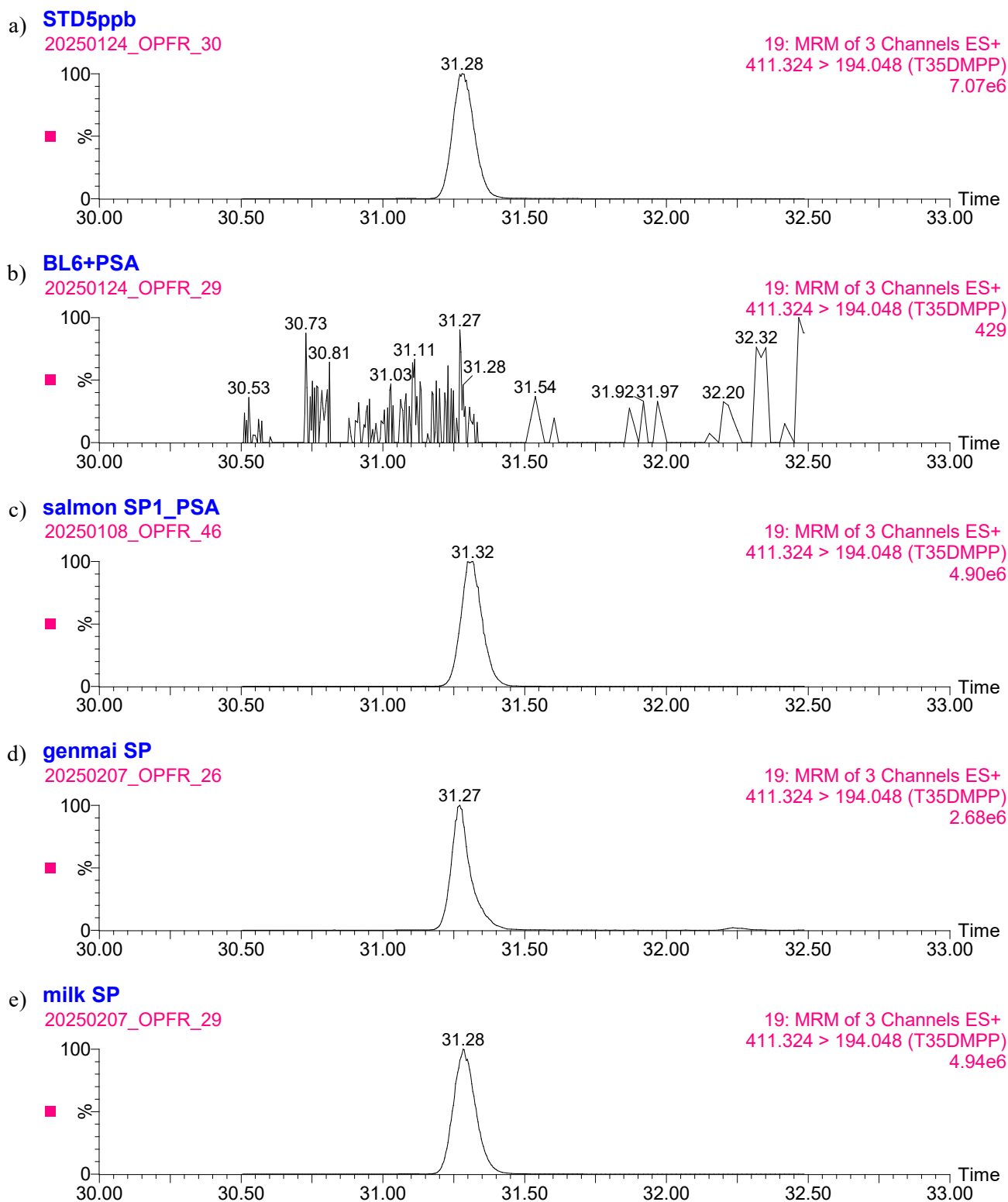


図 14 T35DMPhP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

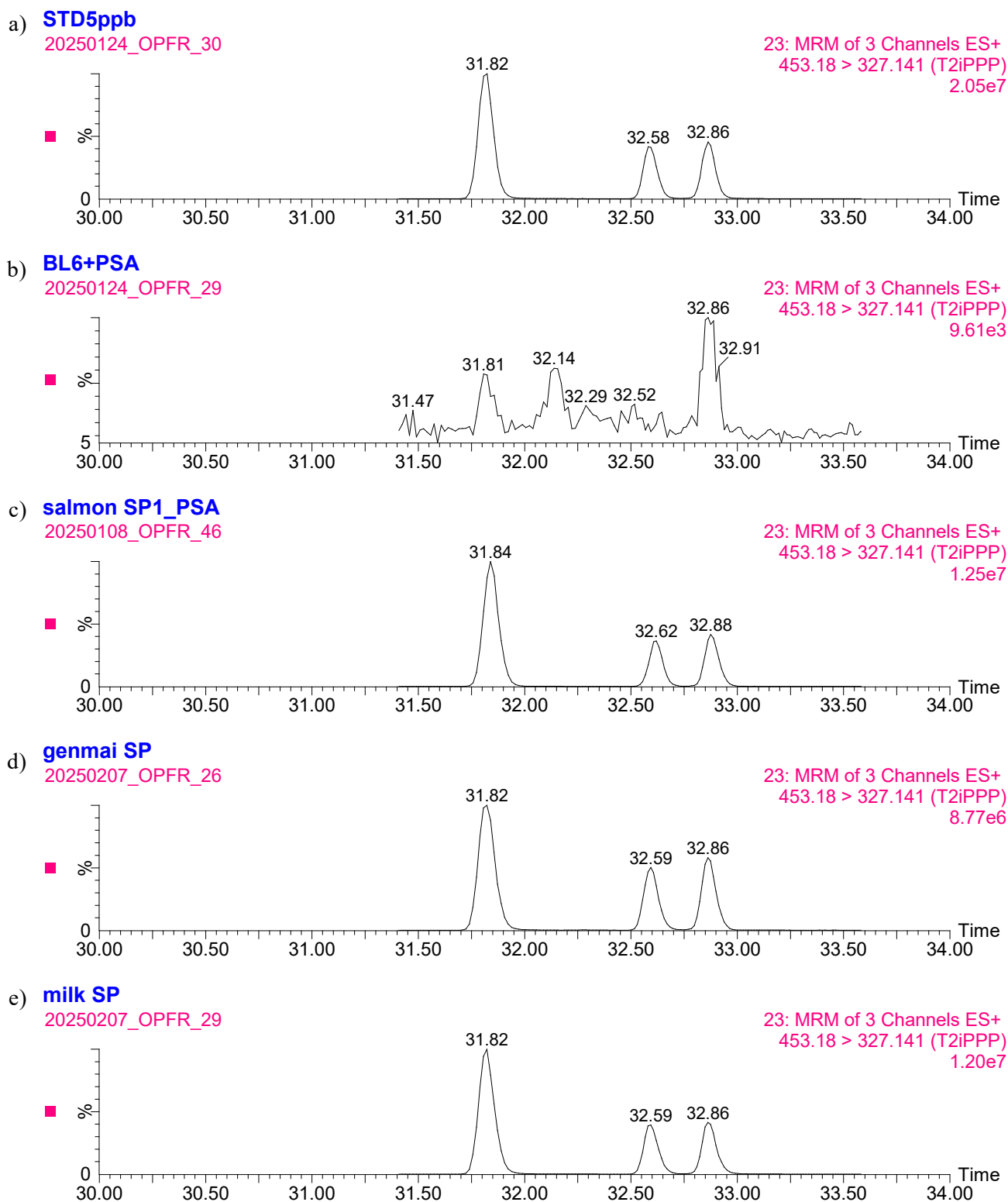


図 15 T2iPPhP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

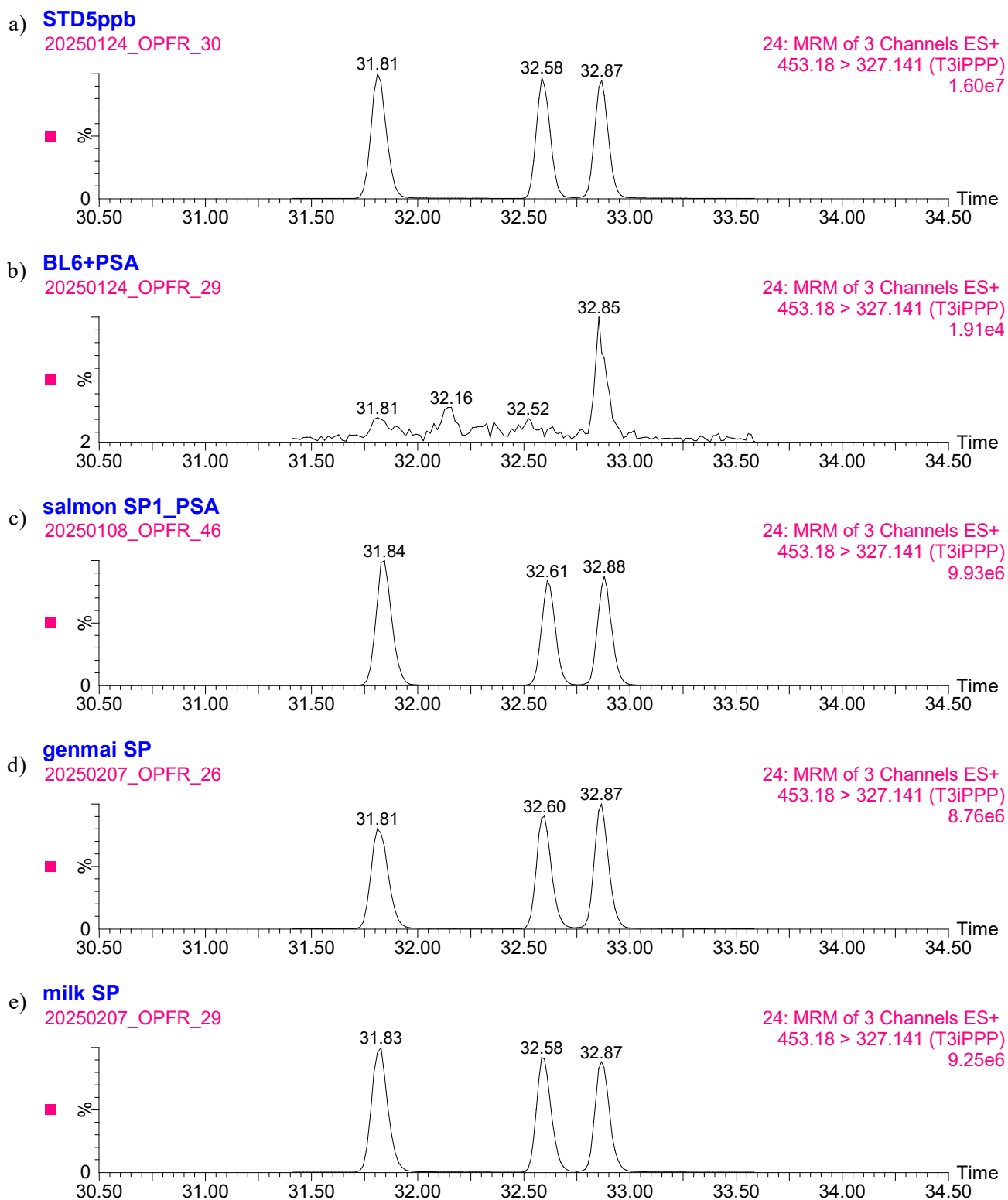


図 16 T3iPPhP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

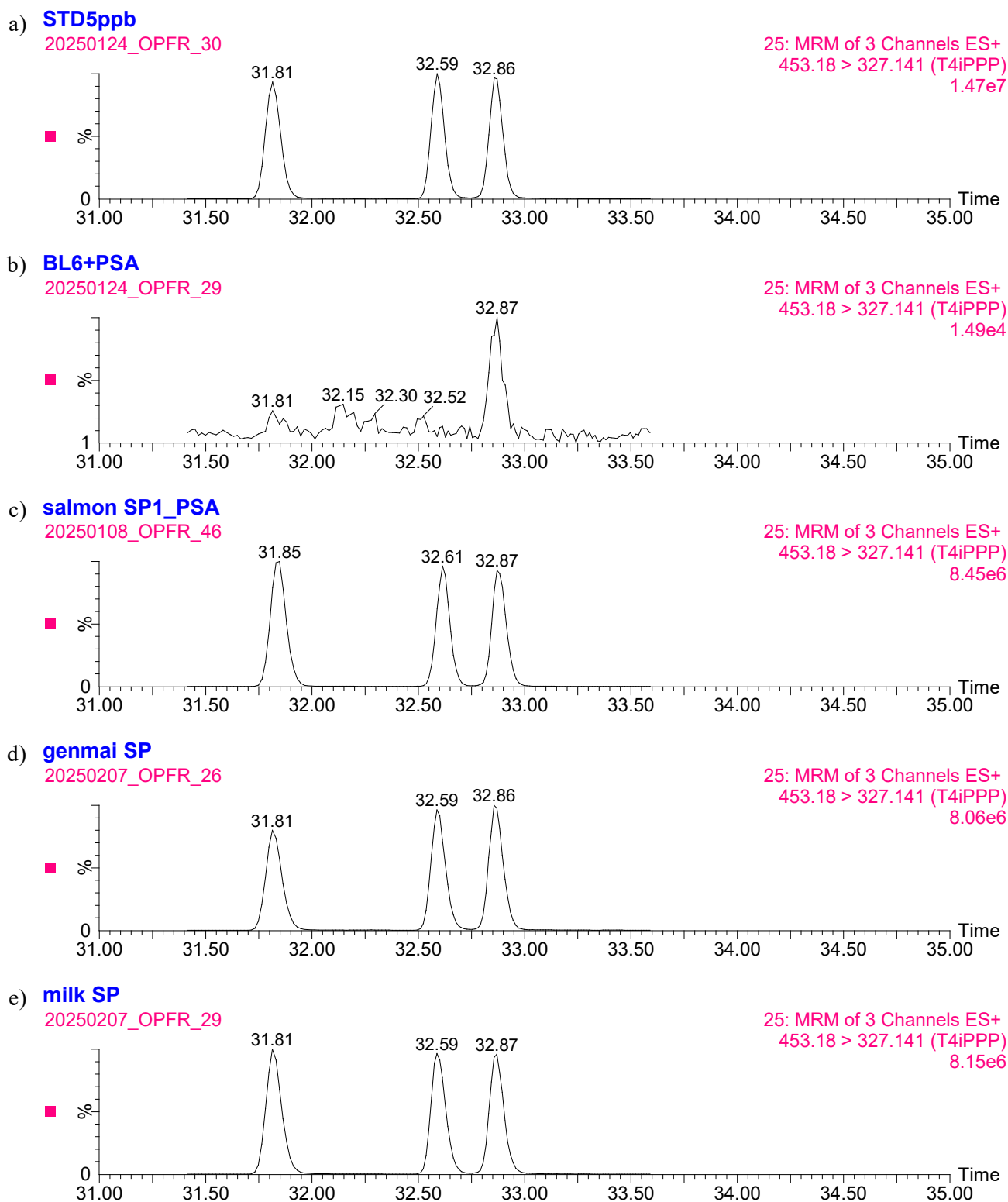


図 17 T4iPPhP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)

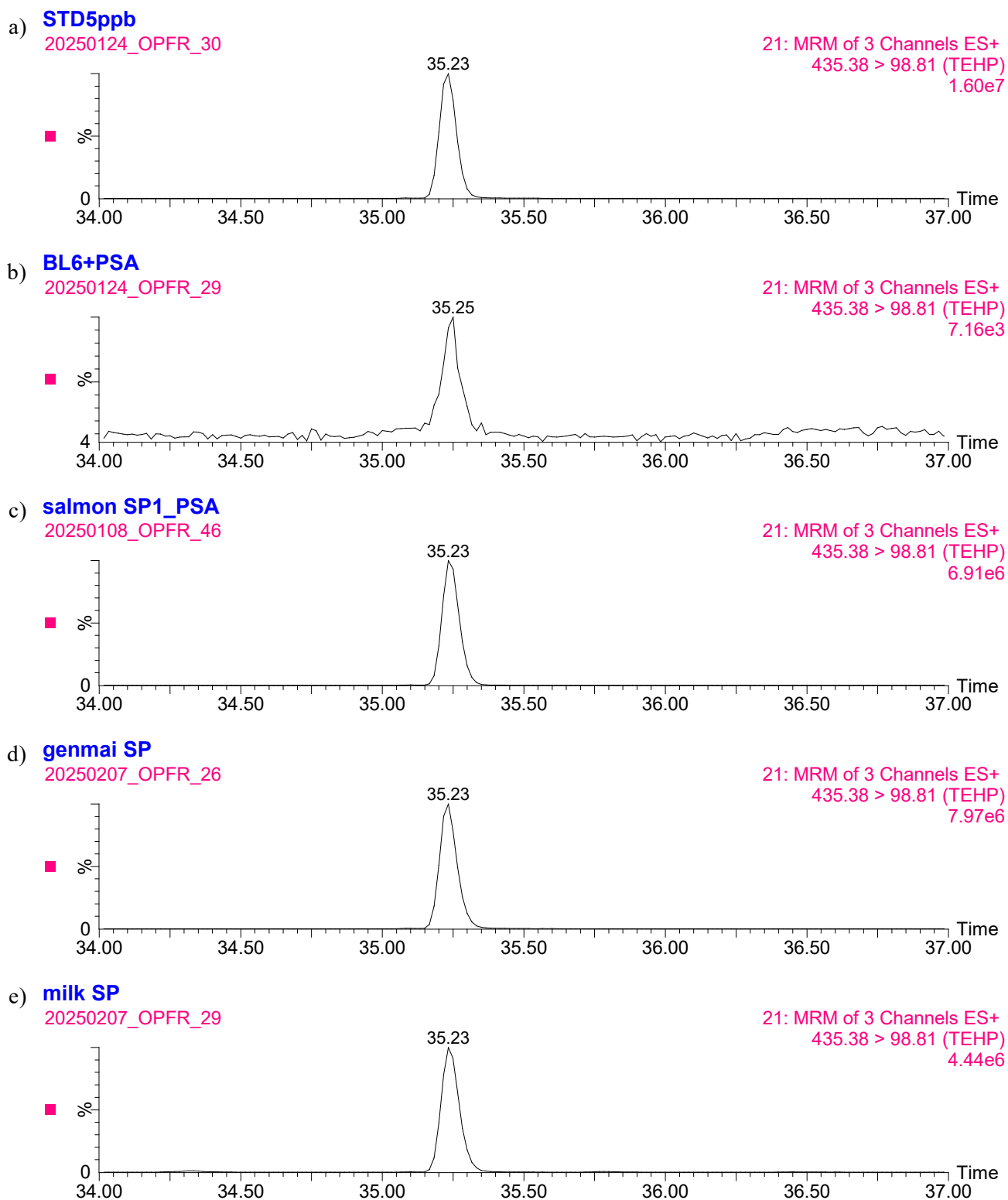


図 18 TEHP の SRM クロマトグラム

- a)標準溶液 (5 ng/mL)
- b)ブランク試料 (GPC+PSA)
- c)添加回収試料 (サーモン)
- d)添加回収試料 (玄米)
- e)添加回収試料 (牛乳)