

I．総括研究報告書

食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価と
その手法開発のための研究

研究代表者 堤 智昭

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

食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価と
その手法開発のための研究

研究代表者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

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

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

(1-1)トータルダイエツト試料の分析による塩素化ダイオキシン類摂取量推定

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

(1-2) トータルダイエツト試料の分析によるポリ塩化ビフェニル摂取量推定

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

(1-3)トータルダイエツト試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定

(1-3-1) 食品中の有機フッ素化合物分析法の基礎検討

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

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

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

(1-4) 乳幼児の一食分試料を用いたダイオキシン類摂取量調査

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

(2) 食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

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

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1) GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

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

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

値(又は参考値)の平均値±2SDの範囲内であった。

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

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

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

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

(3-3) 食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

PSA 固相ミニカラムによる精製を追加検討し、リン酸エステル系難燃剤(OPFRs)一斉分析法の検出下限値の推定、添加回収試験を実施した。推定された検出下限値は、少なくとも TDI が示されている OPFRs については、TD 調査において TDI との比較を行う上で、概ね適切な検出下限値であると考えられた。サーモン、玄米、牛乳を用いて添加回収試験を行った結果、玄米におけるトリス(3,5-ジメチルフェニル)ホスフェート(T35DMPPHP)、牛乳における T35DMPPHP、トリス(2-エチルヘキシル)ホスフェート(TEHP)を除いて 72~120%の回収率が得られ概ね良好な結果であった。

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

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

(5) 国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害物質の調査に関する研究

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

(6) 原因物質と推定されるペブルル酸等の毒性に関する研究

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

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

(7) 紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究

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

研究分担者

国立医薬品食品衛生研究所食品部

堤 智昭

国立医薬品食品衛生研究所食品部

鈴木美成

東京大学医学部附属病院総合周産期母子医療センター

鹿嶋晃平

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

登田美桜

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター

平林容子

国立医薬品食品衛生研究所生薬部

伊藤 美千穂

新潟県保健環境科学研究所

五井千尋

埼玉県衛生研究所

中代 智菜美、今井浩一

横浜市衛生研究所

石井敬子、前川ゆずは、森田昌弘

名古屋市衛生研究所

野口昭一郎、高木恭子、宮崎仁志

和歌山県環境衛生研究センター

新宅沙織

香川県環境保健研究センター

安永 恵、櫻井 麻里南

沖縄県衛生環境研究所

仲眞 弘樹

福岡県保健環境研究所

佐藤 環、飛石和大、新谷依子、中村麻子、

堀 就英

立命館大学大学院薬学研究科

井之上 浩一

立命館大学薬学部薬学科

高山卓大、加藤彩花、樋口朋哉

埼玉県立小児医療センター

岡 明

医療法人成和会山口病院

山口 暁

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

高附 巧、張 天齊、足立利華、五十嵐敦子、川又香予、鍋師裕美、山崎由貴、高橋未来、柏原奈央、北山育子、中村公亮、畝山智香子、井上依子、吉成知也、出水庸介、豊田武士、杉山圭一、花尻(木倉)瑠理、増本直子、田中誠司

北海道立衛生研究所

青柳直樹、市橋大山、吉田優也

A. 研究目的

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

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

究

(1-1)トータルダイエツト試料の分析による塩素化ダイオキシソ類摂取量推定

(1-2)トータルダイエツト試料の分析によるポリ塩化ビフェニル摂取量推定

(1-3)トータルダイエツト試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定

(1-3-1)食品中の有機フッ素化合物分析法の基礎検討

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

(1-4)乳幼児の一食分試料を用いたダイオキシソ類摂取量調査

(2)食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

(3)有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1)GC-MS/MSを用いた食品中のダイオキシソ類分析の検討

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

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

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

(3-3)食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

(4)母乳のダイオキシソ類汚染の実態調査と乳幼児の発達への影響に関する研究

(5)国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害物質の調査に関する研究

(6)原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究

(6-1)ラットを用いたプベルル酸等の毒性試験

(6-2)プベルル酸の遺伝毒性試験

(7)紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究

(7-1)プベルル酸産生菌の性状及び紅麹製品への混入メカニズムの解析

(7-2)化合物 Y 及び化合物 Z の立体構造解明

B. 研究方法

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

(1-1) トータルダイエツト試料の分析による塩素化ダイオキシン類摂取量推定

TD 試料

TD 試料は、全国 7 地区の 8 機関で調製した。厚生労働省が実施した 2017 年～2019 年の国民健康・栄養調査の地域別食品摂取量(1 歳以上)を項目ごとに平均し、各食品の地域別摂取量とした。食品は 14 群に大別して試料を調製した。各機関はそれぞれ約 120 品目の食品を購入し、地域別食品摂取量に基づいて、それらの食品を計量し、食品によっては調理した後、食品群ごとに混合均一化したものを試料とした。さらに第 14 群として飲料水を試料とした。1～9 群、及び 12～14 群は、各機関で 1 セットの試料を調製した。10 及び 11 群はダイオキシン類の主要な摂取源であるため、8 機関が各群 3 セットずつ調製した。これら 3 セットの試料調製では、魚種、産地、メーカー等が異なる食品を含めた。各機関で 3 セットずつ調製した 10 及び 11 群の試料はそれぞれの試料を分析に供した。一方、1～9 群及び 12～14 群は、各機関の食品摂取量に応じた割合で混合した共通試料とし、分析に供した。

ダイオキシン類の分析

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

ダイオキシン類摂取量の推定

TD 試料におけるダイオキシン類の毒性等量(TEQ)濃度に、各食品群の食品摂取量を乗じてダイオキシン類の一日摂取量を推定した。TEQ の算出には 2005 年に定められた毒性等価係数(2005 WHO-TEFs)を使用し、分析値が検出下限値(LOD)未満の場合は 0 として計算した。ま

た、一部については、最近公表された新しい TEFs(2022 WHO-TEFs)を用いた場合のダイオキシン類の一日摂取量も参考値として算出した。

(1-2)トータルダイエツト試料の分析による PCBs 摂取量推定

TD 試料

TD 試料は、全国 10 地域の衛生研究所等で調製した。厚生労働省が実施した 2017 年～2019 年の国民健康・栄養調査の地域別食品摂取量(1 歳以上)を項目ごとに平均し、各食品の地域別摂取量とした。各地の小売店から食品を購入し、地域別食品摂取量に基づいて、それらの食品を計量し、食品によっては調理した後、食品群(計 13 食品群)ごとに混合均一化したものを試料とした。過去の研究から PCBs 摂取量に占める割合の高い食品群は、10 群(魚介類)と 11 群(肉類、卵類)であることが判明しているため、これら二つの食品群を分析対象とした。

10 群及び 11 群の前処理

均一化した試料 20 g をビーカーに量りとり、クリーンアップスパイクを加えた後、1 mol/L 水酸化カリウムエタノール溶液を加えスターラーで攪拌した。このアルカリ分解液を分液ロートに移した後、水及びヘキサンを加え、振とう抽出した。静置後、ヘキサン層を分取し、水層にヘキサンを加え同様の操作を 2 回行った。ヘキサン抽出液を合わせ、2%塩化ナトリウム溶液を加えて緩やかに揺り動かし、静置後、水層を除き同様の操作を繰り返した。ヘキサン層の入った分液漏斗に濃硫酸を適量加え、緩やかに振とうし、静置後、硫酸層を除去した。この操作を硫酸層の着色が薄くなるまで繰り返した。ヘキサン層をヘキサン洗浄水で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、溶媒を留去し少量のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルをヘキサンで洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサンで溶出した。溶出液は溶媒を留去し、少量のヘキサンに溶解した。アルミナカラムに試験溶液を注入し、ヘキサンで洗浄後、20%(v/v)ジクロロメタン含有ヘキサンで溶出した。溶

媒を留去し、シリジンスパイクを加え、GC/MS 試験溶液とした。

PCBs の測定

高分解能 GC/MS を使用して下記の条件で測定した。

GC カラム:HT8-PCB(トレイジャン サイエнтиフィック) 内径 0.25 mm×60 m

注入方式:スプリットレス

注入口温度:280℃

注入量:2.0 µL

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

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.0 mL/分)

MS 導入部温度:300℃

イオン源温度:290℃

イオン化法:EI ポジティブ

イオン化電圧:38 eV

イオン化電流:600 µA

加速電圧:~10.0 kV

分解能:10,000 以上

測定モード:SIM

PCBs 摂取量の推定

TD 試料における分析対象物の濃度に、各食品群の食品摂取量を乗じて PCBs の一日摂取量を推定した。推定にあたっては、分析値が LOD 未満の場合は 0 として計算した。

(1-3) トータルダイエツト試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定

(1-3-1) 食品中の有機フッ素化合物分析法の基礎検討

試験溶液の調製

食品試料 5 g をアセトニトリル 20 mL を用いてホモジナイズ抽出を行った。添加回収試験の際には、試料に標準品混合溶液と内部標準物質 (¹³C 標識体) を添加した。その後、4℃、15,000 rpm で 10 分間遠心分離を行い、上清を回収した。さらに、残留物にアセトニトリル 10 mL を加えて同様にホモジナイズ抽出と遠心分離を行い、上清を回収した。回収した上清を、ロータリーエ

バポレーターを用いて約 3 mL に減圧濃縮した。この濃縮した溶液を酢酸緩衝液で約 10 mL に希釈したものを食品抽出液とした。

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

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

LC-MS/MS 測定条件

LC 装置:Waters 社製 Acquity H Class

MS 装置:Waters 社製 Xevo TQXS

Capillary voltage 2.0 kV

Extractor voltage 3 V

RF lens voltage 2.5 V

Source temperature 150℃

Desolvation temperature 400℃

MS mode MRM mode

Cone/desolvation gas flows 50/800 L/hr

Cone voltage 15-50 V

Collision energy 15-50 eV

イオン化モード:ESI ネガティブモード

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

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

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

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

流速: 0.2 mL/min

注入量: 10 µL

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

TD 試料

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

試験溶液の調製

均一化した試料5.0 gを100 mLポリプロピレンチューブに量りとり、各分子種の¹³C標識体を10 ng/mLの濃度で含むIS混合標準溶液0.1 mLを加えた(試料中濃度として0.2 ng/gを添加)。次いで、3群及び13群の試料については、水5 mLも加えた。試料にアセトニトリル20 mLを加え、ポリトロン(Model PT3100D、KINEMATICA製)を用いて1分間ホモジナイズした後、0℃、3,000 rpmで5分間遠心分離を行った。得られた

上清をナスフラスコに移した後、残渣にアセトニトリル10 mL及びステンレスボール1個を加え、振とう機(エルビスEL型、スギヤマゲン製)を用いて5分間振とうした。0℃、3,000 rpmで5分間遠心分離を行った後、得られた上清を合わせ、40℃で10 mL以下まで減圧濃縮した。これに20 mM酢酸緩衝液(pH5.2)15 mLを加えたものを抽出液とした。

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

LC-MS/MS 測定条件

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

PFAS 摂取量の推定

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

(1-4)乳幼児の一食分試料を用いたダイオキシン類摂取量調査

一食分試料

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

“その他”及び“ミルク”の試料

均一化した試料 100.0 g をビーカーに量りとり、クリーンアップスパイク (^{13}C 標識した PCDD/PCDFs 各 40 pg (OCDD/OCDF は 80 pg)、ノンオルト PCBs 各 100 pg、モノオルト PCBs 各 2.5 ng) を加えた後、2 mol/L 水酸化カリウム水溶液を 200 mL 加え室温で約 16 時間放置した。このアルカリ分解液を分液ロートに移した後、メタノール 150 mL、ヘキサン 100 mL を加え 10 分間振とう抽出した。静置後、ヘキサン層を分取し、水層にヘキサン 70 mL を加え同様の操作を 2 回行った。ヘキサン層を合わせ、2%塩化ナトリウム溶液 150 mL を加えて緩やかに揺り動かし、静置後、水層を除き同様の操作を繰り返した。ヘキサン層の入った分液ロートに濃硫酸を適量加え、緩やかに振とうし、静置後、硫酸層を除去した。この操作を硫酸層の着色が薄くなるまで繰り返した。ヘキサン層をヘキサン洗浄水 10 mL で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルカラムをヘキサン 200 mL で洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサン 200 mL で溶出した。溶出液は溶媒を留去し、約 2 mL のヘキサンに溶解した。ヘキサンで湿式充填したアルミナカラムに試験溶液を注入し、ヘキサン 150 mL で洗浄後、2% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサン 200 mL でモノオルト PCBs 分画を溶出した。次いで、60% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサン 200 mL で

PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。モノオルト PCBs 分画は溶媒を留去し、シリジンスパイク 500 μL (^{13}C 標識体 2.5 ng) を添加し高分解能 GC/MS に供した。PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画は溶媒を留去した後、活性炭分散シリカゲルリバーサカラムに注入し、10 分程度放置した。25% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサン 80 mL でカラムを洗浄後、カラムを反転させ、トルエン 80 mL で PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリジンスパイク 20 μL (PCDD/PCDFs 用 ^{13}C 標識体 40 pg、ノンオルト PCB 用 ^{13}C 標識体 100 pg) を添加し高分解能 GC/MS に供した。

“主食・汁物”の試料

均一化した試料 100.0 g をナスフラスコに量りとり、クリーンアップスパイク (^{13}C 標識した PCDD/PCDFs 各 40 pg (OCDD/OCDF は 80 pg)、ノンオルト PCBs 各 100 pg、モノオルト PCBs 各 2.5 ng) を加えた後、アセトン 150 mL、ヘキサン 150 mL を加え 1 時間振とう抽出をした。抽出溶液を吸引ろ過し、残渣にアセトン 50 mL、ヘキサン 50 mL を加え 15 分間振とうし、同様の操作を行なった。抽出液を分液ロートに合わせ、2%塩化ナトリウム溶液 150 mL を加えて緩やかに揺り動かし、静置後、水層を除き同様の操作を繰り返した。ヘキサン層の入った分液ロートに濃硫酸を適量加え、緩やかに振とうし、静置後、硫酸層を除去した。この操作を硫酸層の着色が薄くなるまで繰り返した。ヘキサン層をヘキサン洗浄水 10 mL で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。この溶液を“その他”及び“ミルク”の試料と同様に、多層シリカゲルカラム、アルミナカラム、及び活性炭分散シリカゲルリバーサカラムにより精製後、シリジンスパイクを添加し高分解能 GC/MS に供した。

ダイオキシン類の測定

測定条件の詳細は、本年度の分担研究報告書「(1-1)トータルダイエツト試料の分析による塩素化ダイオキシン類摂取量推定」に示した。

(2)食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

ICP-MSによる元素分析

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

分解後の溶液に、混合内部標準溶液 0.5 mL を添加後、水で 50 mL に定容した。定容後の溶液を測定溶液として ICP-MS により測定した。ただし、14 群の試料に対しては、試料 40 mL に対し硝酸 5 mL、過酸化水素 2 mL を添加し、50 mL に定容したものを ICP-MS 用の分析試料とした。

ヒ素の化学形態別分析

試料 2.0 g を量り取り、0.3 mol/L 硝酸溶液 5 mL を加え、100℃で2時間静置した。なお、30 分おきによく振り混ぜた。2600×g で 10 分間遠心分離後、水層を 20 mL メスフラスコに移した。残渣に水 5.0 mL を加え、手でよく振とうした後、同様に遠心分離後、水層を上記のメスフラスコに合わせた。同様の操作を計 2 回行った。メスフラスコにメチルオレンジ溶液を 100 µL 加え、5%アンモニア水で約 pH 2.7 (溶液の色が薄い赤色～オレンジ)に調整した後、20 mL に定容した。この溶液を孔径 0.45 µm の PTFE フィルターでろ過したものを、測定溶液とした。

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

総水銀の分析

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

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

メチル水銀の分析

試料 2.0 g を量り取り、10% TMAH 溶液 5 mL を加え、80℃で2時間静置した。なお、30 分おきによく振り混ぜた。2,600×g で 10 分間遠心分離後、上澄みを 20 mL メスフラスコに移した。残渣に水 5.0 mL を加え、手でよく振とうした後、同様に遠心分離後、水層を上記のメスフラスコに合わせた。同様の操作を計 2 回行った。塩酸を用いて pH 2.3 に調整した後、20 mL に定容した。この溶液を孔径 0.45 µm の PTFE フィルターでろ過したものを、測定溶液とした。

1 群の場合には、試料 2.0 g に対して人口唾液 (1.667 mg/mL NaCl, 0.5 mg/mL NaSCN, 1.833 mg/mL Na₂SO₄, 0.5 mg/mL NaHCO₃, 1.5 mg/mL KCl, 2.0 mg/mL KH₂PO₄, CaCl₂·H₂O, 0.833 mg/mL α-アミラーゼ, 0.333mg/mL 尿酸, 0.033 mg/mL 尿素, 2.5 mg/mL ムチン) を 3 mL 添加し、37℃で 15 分静置した後、25% TMAH を 2 mL 添加し 80℃で2時間静置した。以降の操作は、上記と同様に行った。メチル水銀 (MeHg) は水銀としての濃度で示した。

統計解析

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

て、標準偏差はピーク面積値の2乗根を用いた。

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

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

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

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

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

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1) GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の検討

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

試験溶液の調整

試料 (50 g (認証標準試料は約 4 g)) をビーカーに量りとり、クリーンアップスパイクを加えた後、2 mol/L 水酸化カリウム水溶液を 200 mL 加え室温で約 16 時間放置した。このアルカリ分解液を

分液ロートに移した後、メタノール 150 mL、ヘキサン 100 mL を加え 10 分間振とう抽出した。静置後、ヘキサン層を分取し、水層にヘキサン 70 mL を加え同様の操作を 2 回行った。ヘキサン抽出液を合わせ、2%塩化ナトリウム溶液 150 mL を加えて緩やかに揺り動かし、静置後、水層を除き同様の操作を繰り返した。ヘキサン層の入った分液漏斗に濃硫酸を適量加え、緩やかに振とうし、静置後、硫酸層を除去した。この操作を硫酸層の着色が薄くなるまで繰り返した。ヘキサン層をヘキサン洗浄水 10 mL で 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、溶媒を留去し約 2 mL のヘキサンに溶解した。多層シリカゲルをヘキサン 200 mL で洗浄した後、試験溶液を注入し、ヘキサン 200 mL で溶出した。溶出液は溶媒を留去し、約 2 mL のヘキサンに溶解した。ヘキサンで湿式充填したアルミナカラムに試験溶液を注入し、ヘキサン 150 mL で洗浄後、2% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサン 200 mL でモノオルト PCBs 分画を溶出した。次いで、60% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサン 200 mL で PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。モノオルト PCBs 分画は溶媒を留去した後、活性炭分散シリカゲルリバーサカラムに注入し、30 分程度放置した。ヘキサン 40 mL でカラムを洗浄後、25% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサン 60 mL でモノオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリジンスパイクを添加し GC-MS/MS に供した。PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画は溶媒を留去した後、活性炭分散シリカゲルリバーサカラムに注入し、10 分程度放置した。25% (v/v) ジクロロメタン含有ヘキサン 80 mL でカラムを洗浄後、カラムを反転させ、トルエン 40 mL で PCDD/PCDFs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリジンスパイクを添加し GC-MS/MS に供した。

EI 法を用いた GC-MS/MS 測定条件

1) 装置

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

2)GC 条件

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

カラム:BPX-DXN(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:2 µL

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

キャリアーガス:ヘリウム(流速:1.2 mL/分)

②2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDF

カラム:RH-12ms(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:2 µL

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

キャリアーガス:ヘリウム(流速:1.0 mL/分)

③Co-PCBs

カラム:RH-12ms(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:1 µL

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

キャリアーガス:ヘリウム(流速:1.0 mL/分)

3)MS/MS 条件

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

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

試験溶液の調整

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

APGC 法を用いた GC-MS/MS 測定条件

1)装置

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

2)GC 条件

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

カラム:BPX-DXN(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:1 µL

トランスファーライン温度: 320℃

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

キャリアーガス:ヘリウム(流速:1.5 mL/分)

②2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDF

カラム:RH-12ms(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:1 µL

トランスファーライン温度:320℃

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

キャリアーガス:ヘリウム(流速:1.3 mL/分)

③Co-PCBs

カラム:RH-12ms(内径 0.25 mm×60 m)

注入方式:スプリットレス

注入口温度:260℃

注入量:1 µL

トランスファーライン温度:320℃

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

キャリアーガス:ヘリウム (流速: 1.3 mL/分)

3)MS/MS 条件

イオン化法:APCI(+)

イオン源温度:150℃

コロナ電流:2 μA

コーンガス流量:270 L/h

AUX ガス流量:200 L/h

メイクアップガス流量:320 mL/min

コリジョンガス:アルゴン

測定モード:SRM

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

標準物質

UV-P、UV-PS、UV-9、UV-234、UV-320、UV-327、UV-328 及び UV-329: AccuStandard 製
UV-090、UV-350 及び UV-360: Toronto Research Chemicals 製

UV-326: 富士フィルム和光純薬製

UV-928: BLD pharm 製

UV-P d_3 及び UV-326 d_3 : 林純薬工業製

UV-PS d_4 、UV-234 d_4 、UV-320 d_4 、UV-327 d_3 、UV-328 d_4 、UV-329 d_4 、UV-350 d_4 及び UV-928 d_4 : ASCA GmbH 製

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

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

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

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

に添加して調製した。

添加回収試験用混合標準溶液: 各標準原液をメタノールで適宜希釈して、2 μg/L 混合溶液を調製した。この溶液には、定容前に安定同位体標識化合物を 20 μg/L となるように添加して調製した。

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

試験溶液の調製

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

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

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

LC-MS/MS による BT の測定

LC 装置: Waters 製 ACQUITY Premier

分離カラム: UHPLC PEEK Column InertSustain C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μm、

GL Sciences 製)

移動相:A 蒸留水、B メタノール、C 5 mM ギ酸
アンモニウム溶液 (A/B/C = 9/90/1 (0-27.0
min) → 0/99/1 (27.1-60.0 min) → 9/90/1
(60.1-67 min))

流速:0.2 mL/min

注入量:5 µL

MS 装置:Waters 製 Xevo TQ-XS

キャピラリー電圧:3.0 kV

イオン源温度:3.0 kV

イオン源温度:150°C

脱溶媒温度:500°C

コーンガス:N₂ 150 L/hr

脱溶媒ガス:N₂ 1000 L/hr

コリジョンガス:Ar 0.15 mL/min

コーン電圧:30~40 V

コリジョンエネルギー:15~30 eV

イオン化モード:ESI ポジティブモード

測定モード:SRM

添加回収試験 (0.4 ng/g)

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

試料中の含量の測定

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

(3-3) 食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析

法の検討

標準物質

分析対象とした OPFRs の標準溶液は、リン酸トリエチル(TEP)、リン酸トリブチル(TBP)、リン酸トリス(2-クロロエチル) (TCEP)、リン酸トリス(1-クロロ-2-プロパニル) (TCPP)、リン酸トリフェニル(TPhP)、リン酸トリプロピル(TPrP)、リン酸 2-エチルヘキシルジフェニル(EHDPH)、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) (T35DMPH)、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) (T2iPPH)、リン酸トリス(3-イソプロピルフェニル) (T3iPPH)、リン酸トリス(4-イソプロピルフェニル) (T4iPPH)、リン酸トリス(2,3-ジブトロプロピル) (TDBPP)の非標識(ネイティブ体) 18 種類を(株)ウェリントンラボラトリージャパンより購入した。

クリーンアップスパイク標準溶液は、リン酸トリエチル-*d*₁₅ (TEP-*d*₁₅)、リン酸トリブチル-*d*₂₇ (TBP-*d*₂₇)、リン酸トリス(2-クロロエチル)-*d*₁₂ (TCEP-*d*₁₂)、リン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル)-*d*₁₅ (TDCPP-*d*₁₅)、リン酸トリス(2-ブトキシエチル)-¹³C₂ (TBEP-¹³C₂)、リン酸トリフェニル-¹³C₁₈ (TPhP-¹³C₁₈)、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) -¹³C₁₈ (T4iPPH-¹³C₁₈)の安定同位体ラベル化体 8 種類を Cambridge Isotope Laboratories, Inc.より購入した。

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

試験溶液の調製

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

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

ブランク試験は、試料を用いずに試験溶液を調製した。

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

PSA 固相カラム精製条件の検討

アセトン: *n*-ヘキサン (1:1) 混液でネイティブ体の OPFRs 混合標準溶液 (5 ng/mL) を調製し、その 2 mL を予めアセトン: *n*-ヘキサン (1:1) 混液 10 mL でコンディショニングした PSA 固相ミニカラムに負荷し、アセトン: *n*-ヘキサン (1:1) 混液 5 mL で溶出した (画分 1)。さらに、アセトン: *n*-ヘキサン (1:1) 混液 5 mL で溶出した (画分 2)。各画分

を窒素気流下乾固し、メタノールに溶解してクリーンアップスパイクを添加し 1 mL にしたものを LC-MS/MS 測定し、各画分の PSA 固相ミニカラムからの回収率を求めた。

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

LC-MS/MS 測定条件

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

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

母乳試料

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

ダイオキシン類分析

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

母乳中ダイオキシン類の発育発達への影響

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

・これまでににかかった病気

・1 歳までの発育・発達

運動発達(出来るようになった月例)

首のすわり、寝返り、お座り、つかまり立ち、伝い歩き、一人歩き(2～3 歩)

精神発達(出来るようになった月例)

禁止の理解:「いけません」というと、ちょっと手を引っ込める。

動作の理解:「バイバイ」や「さよなら」に反応する。

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

発語:食物のことを「マンマ」という(他の有意義語でも良い)。

動作模倣:ブラシ、鉛筆などを使うまねをする。

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

(5) 国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害物質の調査に関する研究

世界各国の食品安全担当機関やリスク評価担当機関による発表を収集した。学術発表やメディア報道に対応して何らかの発表を行っている場合にはもとになった文献や報道についても可能であれば情報収集した。MOE については評価書から抜き出した数値を表にまとめた。PFAS につ

いては時系列を年表にした。なお収集期間は前回報告の 2024 年 4 月以降 2025 年 2 月までである。

(6) 原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究

(6-1) ラットを用いたプベルル酸等の毒性試験

ラットを用いたプベルル酸の 28 日間反復経口投与毒性試験

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

ラットを用いた化合物 Y 及び Z の 7 日間反復経口投与毒性試験

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

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

(6-2) プベール酸の遺伝毒性試験

プベール酸の細菌を用いる復帰突然変異試験(Ames試験)

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

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

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

である。

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

PAの生体における遺伝子突然変異誘発能の有無について検討するため、遺伝子改変げっ歯類(MutaMouse)を用い、標的器官におけるレポーター遺伝子(lacZ)に対する遺伝子突然変異誘発性を検討した。被験物質(国立医薬品食品

衛生研究所 有機化学部にて合成:Lot no. 20240904、純度 98.5%)の溶媒には0.5 w/v%メチルセルロース水溶液を用いた。用量設定試験にはMutaMouseの親動物であるCD2F1マウスを使用した。本試験の試験用量を設定するため、100 mg/kg/dayを最高用量とし、公比約3で除した30.0, 10.0 および 3.00 mg/kg/dayの計4用量を設定し、CD2F1マウスの雌雄に、1日1回、14日間反復強制経口投与した。

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

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

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

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

(7) 紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究

(7-1) プベール酸産生菌の性状及び紅麹製品への混入メカニズムの解析

***P. adametzioides*の代謝物の解析**

P. adametzioides 11-1株を米培地で培養し、

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

共培養試験

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

(7-2)化合物 Y 及び化合物 Z の立体構造解明

試料、試薬及び試料調製

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

C. 結果及び考察

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

(1-1) トータルダイエツト試料の分析による塩素化ダイオキシン類摂取量推定

ダイオキシン類摂取量

PCDD/PCDFs と Co-PCBs を合わせたダイオキシン類の一日摂取量は、平均 20.33 (範囲 7.92 ~ 38.53) pg TEQ/person/day と推定された。体重あたりの摂取量は平均 0.41 (範囲: 0.16 ~ 0.77) pg TEQ/kg bw/day であった。平均値は日本のダイオキシン類の TDI (4 pg TEQ/kg bw/day) の約 10%であり、最大値は TDI の 19%程度に相当した。昨年度は平均 0.40 (範囲: 0.12 ~ 0.79) pg TEQ/kg bw/day であり、今年度の平均値は昨年度の平均値とほぼ同じ値であった。

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

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

ダイオキシン類摂取量の経年変化

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

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

日本では Co-PCBs を含む PCB 製品の使用が 1972 年に禁止されている。また、PCDD/PCDFs を不純物として含むことが知られている農薬(クロロントロフェン及びペンタクロフェノール)の農薬登録が 1970 年代に失効している。さらには、1999 年に制定されたダイオキシン類対策特別措置法により、焼却施設等からのダイオキシン類の排出が大幅に抑制されている。ダイオキシン類摂取量の低下についてはこれらの行政施策の効果が窺われた。また、10 群の食品摂取量は近年ゆるやかな減少を示しており、今年度の 10 群の食品摂取量は 1998 年と比較して約 65%に減少していた。食生活の多様化に伴う魚介類摂取量の減少も部分的にダイオキシン類摂取量の減少に寄与していると考えられた。

国内外のダイオキシン類摂取量調査との比較

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

定には、分析法の LOD、LOD の取り扱い、また対象とした年齢層などの違いが影響するため、各国のダイオキシン類摂取量を単純に比較することは難しい。これらの点に留意する必要があるが、本調査のダイオキシン類摂取量は諸外国で報告されているダイオキシン類摂取量と比較し、特に高いことはなかった。

新しい TEFs を使用したダイオキシン類摂取量との比較

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

(1-2)トータルダイエツト試料の分析によるポリ塩化ビフェニル摂取量推定

PCBs 摂取量の推定

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

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

均値は 250 ng/person/day であった。昨年度の総 PCBs 摂取量の全国平均値は 270 ng/person/day であり、今年度の総 PCBs 摂取量は昨年度と比較してやや低い値であった。現在、日本では PCBs に暫定一日摂取許容量(5 µg/kg bw/day) が示されている。本研究で推定された総 PCBs 摂取量の全国平均値は 250 ng/person/day であり、体重(50 kg と仮定)あたりでは 5.0 ng/kg bw/day であった。この値は暫定一日許容量の僅か 0.1%程度であった。一見すると総 PCBs の摂取量は十分に小さいと考えられるが、暫定一日許容量は 1972 年に示されたものであり、その導出の根拠となった長期毒性研究は非常に古い時代のものである。より新しい毒性の知見を踏まえた TDI 等の健康影響に基づく指標値と比較することも必要と考えられる。2003 年に WHO で PCBs に関する国際簡潔評価文書 No.55(CICAD: Concise International Chemical Assessment Document) が作成された。この中で PCBs の混合物について TDI として 0.02 µg /kg bw/day が提案されている。この TDI と比較すると総 PCBs 摂取量の全国平均値は 25%に相当した。この値はカドミウムなどの有害元素の摂取量の TDI に対する割合に近い。ただし、本評価文書の TDI の導出の根拠になった毒性研究では、人の健康への重要性が明確になっていない免疫毒性学的影響が毒性の指標となっている。また、PCBs に感受性の高いアカゲザルを使用していることもあり、過度の安全を見込んだ TDI となっている可能性に留意が必要である。

本年度までの総 PCBs 摂取量の全国平均値の経年推移を解析した。総 PCBs 摂取量は 1990 年代前半までに急激に減少しているが、それ以降の減少傾向は鈍化している。行政指導により 1972 年に PCBs 製品の製造・使用が中止となり、1973 年には PCBs は化審法により特定化学物質(現在の第一種特定化学物質)に指定された。1990 年代前半までの急激な摂取量の低下はこれらの行政施策の効果が反映されているものと考えられる。本年度の総 PCBs 摂取量の全国平

均値は、調査開始以来、2 番目に低い値であった。調査開始時の総 PCBs 摂取量と比較すると、本年度の総 PCBs 摂取量は 1/13 程度であった。

非ダイオキシン様 PCBs (NDL-PCBs) 摂取量の推定

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

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

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

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

国内外の PCBs 摂取量調査との比較

日本と主な諸外国で実施された PCBs 摂取量調査の結果をまとめた。日本国内では本調査の他に、東京都が実施している PCBs 摂取量調査の報告がある。東京都の 2023 年の PCBs 摂取量は 5.2 ng/kg bw/day と報告されており、本調査の結果と近い値であった。諸外国の調査結果と比較すると、本研究の結果は主な諸外国で報告されている PCBs 摂取量の範囲内であり、特に高いことはなかった。また、NDL-PCBs の指標異性体として用いられる 6PCBs の摂取量について、日本と主な諸外国の調査結果をまとめた。日本の 6PCBs 摂取量は 1.6 ng/kg bw/day であり、諸外国で報告されている 6PCBs 摂取量の範囲内であった。

(1-3) トータルダイエツ試料の分析による有機フッ素化合物摂取量推定

(1-3-1) 食品中の有機フッ素化合物分析法の基礎検討

固相抽出カラムの検討結果

標準品溶液を用いて溶出工程における溶媒の検討を行った。アセトニトリル、メタノール、0.5%トリエチルアミン含有アセトニトリル及び 0.5%アンモニア水含有アセトニトリルを検討した結果、いずれもアセトニトリルあるいはアセトニトリル含有溶液において、40%以上の絶対回収率が得られた。一方で、特に PFODA や PFHxDA において、著しい吸着効果から回収率が十分に確保できない傾向が認められた。これらの回収率の低下は、溶出液量を増やしても改善は認められなかった。そのため、今回の検討では溶出液として 0.5%TEA 含有アセトニトリル溶液を選択した。続いて 4 種の食品における回収率を検討した。

PFDA、PFUdA、PFDoA、PFTeDA、PFDS 及び PFDoS では内標準法に従った回収率が目標値 (65～135%)を満たしており、摂取量調査への適用が期待できた。一方で、PFTrDA、PFHxDA 及び PFODA では内標準法による回収率は目標値から外れていた。これらの PFAS については類似する I.S.が混合液に含まれておらず、前処理における挙動あるいは質量分析における絶対的な応答が I.S.と異なるためであると考えられる。また、絶対検量線法に基づく回収率に関して、特に PFHxDA 及び PFODA で 10%を切る場合があった。これら 2 種を含めて長鎖 PFAS の中でも特に鎖長の長いものに関しては、溶出溶媒量を増やしても回収率が改善しなかったことから、固相担体への非特異的吸着が原因で回収率が低下した可能性が考えられた。そこで次に、固相カラムを用いない前処理法として、近年報告された液液分散マイクロ抽出法の適用を考えた。

液液分散マイクロ抽出の検討結果

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

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

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

PFAS 摂取量の推定

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

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

分析結果をもとに推定した各分子種の摂取量(LB～UB)は、PFOS では 11～262 ng/day、PFOA では 1.3～56 ng/day、PFHxS では 0～22 ng/day、PFNA では 3.2～98 ng/day であった。日本人の平均体重を 50 kg と仮定して体重あたりの摂取量に換算すると、PFOS では 0.23～5.2 ng/kg bw/day、PFOA では 0.025～1.1 ng/kg bw/day、PFHxS では 0～0.44 ng/kg bw/day 及

び PFNA では 0.063～2.0 ng/kg bw/day と推定された。PFOS 及び PFOA の推定摂取量は TDI (20 ng/kg bw/day)の 1.1～26%及び 0.13～5.6%に相当し、昨年度の結果と同様に、両分子種の摂取量は TDI を下回ることが示された。また、各分子種の総摂取量に対する各群の寄与率を求めた結果、LB を用いた場合の 10 群の寄与率は、PFOSでは78.1～99.5%、PFOAでは100.0%、PFHxS では 100.0%及び PFNA では 100.0%を示したことから、PFAS の主な摂取源は 10 群であることが示唆された。

国内外の PFAS 摂取量調査との比較

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

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

(1-4) 乳幼児の一食分試料を用いたダイオキシン類摂取量調査

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

一食分試料からのダイオキシン類摂取量の統計量を計算した。乳児の一食分試料からのダイオキシン類摂取量は、平均値が 1.2 pg TEQ/食、中央値が 0.24 pg TEQ/食、範囲が 0.042~15 pg TEQ/食であった。幼児の一食分試料からのダイオキシン類摂取量は、平均値が 5.7 pg TEQ/食、中央値が 1.2 pg TEQ/食、範囲が 0.011~78 pg TEQ/食であった。幼児のダイオキシン類摂取量の平均値は乳児と比較すると 5 倍程度高かった。体重あたりの摂取量については、乳児の平均体重は 8.64 kg、幼児の平均体重は 10.1 kg を用いて算出した。一食あたりのダイオキシン類摂取量の平均値は、乳児で 0.13 pg TEQ/kg bw/食、幼児で 0.56 pg TEQ/kg bw/食となり、日本の

TDI(4 pg TEQ/kg bw/day)に占める割合は、乳児で 3%程度、幼児で 14%程度であった。今回は昼食のみを調査対象としていることから、朝食や夕食を含めた一日あたりの摂取量を推定することは難しいものの、今回の献立に基づいた一食分試料を一日に 3 回喫食したと仮定した場合の平均的なダイオキシン類摂取量についても TDI を下回ると考えられた。一方で、乳児で最大の摂取量となった試料、及び幼児の 4 試料については、一日に 3 回喫食したと仮定すると、TDI を超過する。ダイオキシン類摂取量を低減する観点からも、特定の種類や産地の食品を過度に摂取するのではなく、多様な食品を含むバランスの良い食生活を送ることが重要であると考えられる。

(2) 食品に含まれる有害元素等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究

各元素類の全国・全年齢層平均ばく露量の推定

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

食品群ごとの寄与率

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

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

Health-based guidance value との比較

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

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

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

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

評価となっている可能性が示唆された。

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

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

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

経年変動

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

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

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

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

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

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

米由来の無機ヒ素の地域ブロック別・年齢層別摂取量推定

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

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

幼児を対象とした鉛の確率論的摂取評価

健康リスクの高い幼児を対象として確率論的な

摂取量推定を行った。対象とした有害元素は、幼児に特有の健康影響（発達神経毒性）が認められるPbとした。

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

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

喫食量算出法の違いが摂取量推定に与える影響

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

そこで、体重当たり喫食量(r, g/kg/day)に

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

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

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

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

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

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

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

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

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

この方法は、地域ブロックの人口を考慮して

いない点が問題となる可能性がある。そこで、以下で示した式のように、各地域の摂取量を人口で重み付けする方法が考えられる（方法 2）。

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

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

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

$${}^{M3}E_{all} = \sum_{i=1}^N \bar{R}_i \bar{C}_i,$$

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

$$\bar{R}_i = \sum_{j=1}^M W_j R_{i,j}, \bar{C}_i = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M C_{i,j}$$

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

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

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

み付け法 a (1.01 – 1.09) を用いた方が、 w^0E_{all} と近い推定値となる傾向があった。摂取量の全国平均値に関する計算方法として、 w^0E_{all} に対する比を比較したところ、方法 3 (1.01 – 1.11)、方法 2 (0.95 – 1.27)、方法 1 (0.94 – 1.29) の順に w^0E_{all} と近い推定値となる傾向にあった。方法 3 は、全体的にはこれまでの算出方法との齟齬が小さかったが、重み付け法 b と方法 3 を用いた iAs の推定摂取量 (算出用 b3) は検討した方法の中で最大の値を示した。以上の結果から、方法 3 が必ずしもこれまでの推定結果との齟齬が小さくなるとは結論できなかった。なお、喫食量算出における重み付け法 a と b では、摂取量評価の目的が異なるため、本研究班における目的について整理する必要があると考えられた。

(3) 有害物質の摂取量推定に必要な分析法の開発に関する研究

(3-1) GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討

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

GC-MS/MS 測定条件の改良

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

ダイオキシン類分析の LODs 及び LOQs

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

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

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

畜水産物に対するダイオキシン類の添加回収試験

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

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

認証標準試料の分析

GC-MS/MS を用いたダイオキシン類分析の信頼性を検証するため、ダイオキシン類濃度が付与されている認証標準試料(WMF-01)を分析した。認証値が付与されているダイオキシン類については、全て LOQs 以上の分析値が得られ、認証値の平均値 $\pm$ 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、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。

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

APCI 法を用いた GC-MS/MS 測定条件の検討

毒性等価係数を有する 29 種のダイオキシン類(17 種の PCDD/PCDFs 及び 12 種の Co-PCBs)について、既報を参考にモニターイオン及びコリジョンエネルギー(eV)を選択した。GC カラムについては 29 種のダイオキシン類を良好に分離する必要があることから、2 種類の GC カラム(BPX-DXN 及び RH-12ms)を用いた。17 種の PCDD/PCDFs の内、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDF、については、RH-12ms を用いて測定した。残りの PCDD/PCDFs について

は、BPX-DXN を用いて測定した。12 種の Co-PCBs については RH-12ms を用いて測定した。GC カラムの昇温条件については、本年度の分担研究報告書「(3-1-1)EI 法を用いた GC-MS/MS による食品中のダイオキシン類分析の検討」を参考にした。

検量線の作成(RRF 及び RRFss の算出)

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

LODs 及び LOQs の推定

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

認証標準試料の分析

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

値が得られたダイオキシン類については概ね認証値(又は参考値)の平均値 $\pm 2SD$ 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ったことから、夾雑物による妨害の可能性が高いと考えられた。

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

選択性

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

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

また、TD 試料(第 10 群)では、魚介類試料の

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

真度、併行精度及び LOQ

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

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

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

試料中の含量の測定

カキ試料において UV-328 が 0.6 ng/g 検出された。その他、すべての試料において定量限界値未満だった。しかしながら、操作ブランク以上かつ $S/N \geq 3$ 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。マグロやブリ等の特定の魚種においては、BT を含有しているという報告もあることから、必要に応じてより高感度な分析法を検討することが望ましいと考えられる。

(3-3) 食品中のリン酸エステル系難燃剤の分析法の検討

PSA 固相カラムの検討

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

検出下限値の推定

今回推定された OPFRs の検出下限値は、GPC のみの場合で 0.0004～0.98 ng/g、GPC+PSA 精製の場合で 0.0004～0.72 ng/g であった。ブランク試験の結果 18 種類の OPFRs のうち、8 種類 (TEP、TCEP、TCPP、TDCPP、TBP、TBEP、T4iPPHP および TEHP) が検出された。推定した OPFRs の検出下限値について、耐容一日摂取量 (TDI) と比較を行った。TDI が示されている OPFRs について、TD 調査において当該物質が検出下限値で含まれていると仮定し、摂取量を試算した。試算された摂取量は TDI と比較して十分に低い値であったことから、少なくともこれらの OPFRs については、TD 調査において TDI との比較を行う上で、概ね適切な検出下限値であると考えられた。

添加回収試験

内部標準法により算出した OPFRs の回収率は、サーモン (GPC+PSA 精製) : 75～120%、サーモン (GPC のみ) : 72～109%、玄米 : 59～112%、牛乳 : 56～134% であった。玄米の T35DMPPHP、牛乳の T35DMPPHP、TEHP を除いて 70～120% の回収率が得られた。サーモンの添加回収試験の併行精度は、GPC+PSA 精製 : 0.4～6.5%、GPC のみ : 0.5～18% であった。PSA 固相カラム精製を追加することによって、一部の OPFRs (TDBPP、EHDP および TEHP) の精

度の向上が見られた。

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

食品試料の分析

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

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

初産婦の出産 1 か月後の母乳中のダイオキシン類濃度

ダイオキシン類として PCDDs 7 種類、PCDFs 10 種類、Co-PCBs 12 種類を測定した。ダイオキシン類濃度の平均±標準偏差は 5.039±1.737 pg TEQ/g fat (中央値 4.611、範囲 3.002～8.785) であった。厚生労働科学研究として Co-PCBs 12 種類を含めて測定を開始した 1998 年度からの傾向として、2013 年度まではダイオキシン類濃度の漸減傾向が認められ、その後 2017 年度までは横ばいを示したが、2018 年度以降は漸減傾向が認められた。環境中のダイオキシン類汚染が改善しており、2013 年から 2017 年にかけては既に基本的に下げ止まってプラトーに達している可能性も考えられるが、2018 年以降、漸減傾向と判断された。母乳中に排泄されるダイオキシン類量がさらに漸減するかどうかは今後の傾向を見る必要がある。

母乳中ダイオキシン類の発育発達への影響

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

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

(5) 国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害物質の調査に関する研究

MOE の情報収集

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

現在 EFSA は、欧州委員会(EC)からの依頼により、ヒ素化合物に関する一連のリスク評価を実施中で、これまで無機ヒ素化合物(2024 年 1 月)、低分子有機ヒ素化合物(2024 年 7 月)、複雑な有機ヒ素化合物(2024 年 12 月)に関する科学的意見を発表しており、それらの評価結果をも

とに今後、無機ヒ素と有機ヒ素の複合ばく露に関するリスク評価も予定している。無機ヒ素については、昨年度の分担研究報告書に記した通り、健康影響の指標である基準点(reference point)を BMDL₀₁(2009 年)0.3~8 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日(範囲)から、疫学研究を根拠にした BMDL₀₅ 0.06 $\mu\text{g iAs/kg}$ 体重/日へと大幅に引き下げた。それにともない、MOE はさらに小さい値となり安全上の懸念があると結論された。今回 EFSA は、低分子有機ヒ素化合物についてはモノメチルアルソン酸(MMA(V))とジメチルアルシン酸(DMA(V))を対象に、また複雑な有機ヒ素化合物についてはアルセノベタイン、アルセノ糖、アルセノ脂質を対象に評価を実施している。それらの評価において健康への懸念があると結論されたのは、DMA(V)のみである。EFSA は、DMA(V)には遺伝毒性と発がん性がありそうだと判断し、EU 諸国における DMA(V)への推定暴露量をもとに算出した MOE が 10,000 を下回ったことから、食品に含まれる DMA(V)への暴露はヒトの健康への懸念を生じると結論した。ただし、リスクの大きさについては、DMA(V)の MOE は無機ヒ素の MOE に比べると大幅に大きいことから、リスクの大きさは無機ヒ素よりも遙かに小さいと言える。主要ばく露源は無機ヒ素と同じくコメ及びコメ製品であったことから、ヒ素化合物へのばく露によるリスクを総合的に考えると、コメ及びコメ製品を介したばく露については無機ヒ素のリスクに有機ヒ素のリスクが上乗せされる可能性がある。そのため、EFSA が複合ばく露によるリスクをどのように評価するのか注意しておく必要がある。さらに、2025 年 10 月に開催予定の第 101 回 FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA)においてヒ素(無機、有機)がリスク評価の対象となっていることから、その評価の動向も注視しておくべきであろう。

英国 COT の評価では、妊娠可能年齢(16~49 歳)の女性における鉛の非がん影響の MOE を算出した。最も影響を受けやすい子供の知能発達の低下という有害影響をエンドポイントにした BMDL₀₁ 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日を基準点として、全

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

情報収集 PFAS 関連の情報収集

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

のミネラルウォーターについては原水の採水の段階から厳格に管理されていることを踏まえて、対象を殺菌・除菌有のミネラルウォーター類のみとし、水質基準案に準じてPFOS及びPFOAの合算値として50 ng/Lが提案されている。

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

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

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

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

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

(6) 原因物質と推定されるプベルル酸等の毒性に関する研究

(6-1) ラットを用いたプベルル酸等の毒性試験

ラットを用いたプベルル酸の 28 日間反復経口投与毒性試験

PA を雌雄の SD ラットに 28 日間反復経口投与した結果、主群において腎臓及び腺胃に毒性影響が認められた。腎臓に対する毒性影響として、尿検査 (新鮮尿) における尿糖の増加及び血清生化学検査におけるクレアチニンの高値が雄の 10 mg/kg 群に、肉眼的病理学検査における腎臓の退色並びに病理組織学的検査における腎臓の近位尿細管の空胞化、壊死及び再生が雄の 10 mg/kg 群及び雌の 3 mg/kg 群に認められ、さらに雄の 10 mg/kg 群では病理組織学的検査において間質の炎症細胞浸潤がみられた。また腺胃に対する毒性影響として、病理組織学的検

査における腺胃粘膜のアポトーシス及び慢性過形成が雄の 3 及び 10 mg/kg 群並びに雌の 3 mg/kg 群に認められた。以上の結果から、本試験条件下における、ラットに対する PA の無毒性量は雌雄ともに 1 mg/kg/day と判断した。

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

ラットを用いた化合物 Y 及び Z の 7 日間反復経口投与毒性試験

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

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

を伴わないことから、毒性学的意義に乏しい偶発的な変動と判断した。

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

(6-2) プベール酸の遺伝毒性試験

プベール酸の Ames 試験

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

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

µg/plate の計 6 用量の被験物質処理用量を設定した。

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

プベール酸の TGR 試験

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

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

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

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

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

(7) 紅麹製品に由来する化合物の発生機序の解明に関する研究

(7-1) プベール酸産生菌の性状及び紅麹製品への混入メカニズムの解析

P. adametzioides の代謝物の解析

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

共培養試験

前培養開始時の混入を想定したモデル(モデル

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

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

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

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

(7-2) 化合物 Y 及び化合物 Z の立体構造解明 化合物 Y 及び Z の単離物と合成物の比較

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

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

化合物 Z 混合溶液の NMR 分析

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

これらの結果から、化合物 Z 単離物と化合物 Z 合成物の立体配置は一致している可能性が高いと考えられた。5' 位、6' 位の化学シフトの相違

に関しては、単離物に含まれる不純物等が影響したものと考えられた。化合物 Y についてはサンプルの量が少なく、混合溶液の NMR 分析を行うことはできなかった。しかし、化合物 Y と化合物 Z では 5' 位、6' 位のシグナルの化学シフトについて、同様の傾向を示していた。そのため、化合物 Y についても化合物 Z と同じく、lovastatin acid と同一の立体構造であると考えられた。

スポンジ結晶法

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

D. 結論

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

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

一日摂取許容量の僅か 0.1%程度であった。また、推定された摂取量はより厳しい WHO の国際簡潔評価文書の TDI と比較しても低い値であったが、TDI の 25%となった。NDL-PCBs の一日摂取量の全国平均値は 230 ng/person/day と推定され、その指標異性体である 6PCBs 摂取量の全国平均値は 80 ng/person/day と推定された。代表的な NDL-PCBs 異性体 (PCB 28, 52, 128, 153, 180) の毒性データを用いて MOE を計算した結果、これらの異性体に対する MOE は 10,672 ～764,062 と十分に大きかった。

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

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

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

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

(3-1-1)PCDD/PCDFs 測定に使用する GC カラムを、DB-5ms UI カラムから BPX-DXN へ変更することで、マトリックスが多いと思われる食品試料を測定した後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。

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

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

題である。

(3-3)PSA 固相ミニカラムによる精製の追加検討を行った上で、OPFRs 一斉分析法の検出下限値の推定、添加回収試験を実施した。PSA 固相ミニカラムによる精製について検討した結果、PSA 固相カラムは、OPFRs を損失することなく精製が可能であり、OPFRs の一斉分析法に適用可能であった。また、推定した OPFRs の検出下限値については、TD 調査において TDI との比較を行う上で概ね適切であると考えられた。サーモン、玄米、牛乳を用いて添加回収試験を行った結果、玄米の T35DMPPHP、牛乳の T35DMPPHP、TEHP を除いて 72~120%の回収率が得られ、概ね良好な結果となった。

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

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

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

である。

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

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

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

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 登田美桜. 諸外国の新規食品制度について. ファルマシア, 60(10), 926-930 (2024)
- 2) 登田美桜, 市川範夫, 井上依子, 河恵子, 春田一絵, 與那覇ひとみ, 畝山智香子. 「食

品安全情報(化学物質)」のトピックスについて—令和5年度(2023). 国立医薬品食品衛生研究所報告, 142, 54-62 (2024)

- 3) Tanaka S, Masumoto N, Makino T, Matsushima Y, Morikawa T, Ito M: Novel compounds isolated from health food products containing beni-koji (red yeast rice) with adverse event reports. *J Nat Med*, 78, 845-848 (2024)
- 4) Takayama T, Shingu A, Kato S, Nagatomo R, Tsutsumi T, Inoue K: Countermeasure for interfered monitoring ion of perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) from intrinsic food samples based on LC-MS/MS analysis of per- and polyfluoroalkyl substances. *J. Food Compos. Anal.*, 2024:133:106436.
- 5) Yoshinari T, Watanabe M, Aoki W, Tanaka S, Masumoto N, Ito M, Ohnishi T: Mechanism of puberulic acid contamination in red yeast rice tablets that caused a serious food poisoning outbreak in Japan. *Proc Jpn Acad Ser B*. 101, 302-316 (2025)
- 6) Matsushita K, Tsuji G, Akane H, Ishii Y, Takasu S, Ogawa K, Ito T, Yokoo H, Sennari G, Iwatsuki M, Hirose T, Hanaki H, Demizu Y, Hirabayashi Y, Saito Y, Honma M, Toyoda T: A 28-day subacute toxicity study of puberulic acid in Crl:CD(SD) rats. *J Toxicol Pathol*, in press

2. 学会発表

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

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

G. 知的財産権の出願、登録

なし