Ⅱ．分担研究報告書

(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)APCI 法を用いた GC-MS/MS による畜水産物中の ダイオキシン類分析法の検討

研究分担者　堤　智昭

令和 7 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

(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)APCI 法を用いた GC-MS/MS による畜水産物中のダイオキシン類分析法の検討

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

APCI法を用いたGC-MS/MSによる畜水産物中のダイオキシン類分析法を検討した。毒性等価係数を有するダイオキシン類異性体（17種のPCDD/Fs及び12種のCo-PCBs）を分析対象とし、測定条件を設定した。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（LOQ）を推定した。推定したLOQは「食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン」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による分析結果を比較した。GC-MS/MSにより得られた各異性体濃度の平均値は、高分解能GC/MSの平均値に対して、ボラで91～110%、牛肉で91～110%、及び鶏卵で91～111%であり、両法の分析結果は良く一致した。また、マグロ、牛肉、及び鶏卵を対象に添加回収試験を実施した結果、各異性体の真度は85～105%、併行精度は10%以下であり、良好な結果が得られた。さらに、ダイオキシン類の分析値が付与された認証標準試料及び品質管理試料を分析した結果、LOQ以上となった異性体の分析値はすべて許容範囲内であった。以上の結果から、本分析法は畜水産物中のダイオキシン類分析法として有用であると考えられた。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所

足立利華、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の測定方法暫定ガイドライン（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、一般的な 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、昨年度は APCI 法を用いた GC-MS/MS(GC-(APCI)MS/MS)によるダイオキシン類測定条件の予備検討を実施した[7]。本年度は新たにダイオキシン類の測定条件を設定した上で、GC-(APCI)MS/MS による畜水産物中のダイオキシン類分析法を検討した。

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。シリンジスパイク標準溶液は、(株)ウェリントンラボラトリージャパンより NK-SS-F 及び MBP-79-500 を購入した。PCDD/Fs 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/Fs 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/Fs 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品)を(株)ウェリントンラボラトリージャパンより購入した。品質管理試料(Quality control materials)として、T06148QC(乳児用調製粉乳)、T06149QC(サケ切り身の凍結乾燥品)、及び T06133QC(タラ肝油)を FERA Science Ltd.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 : 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

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/Fs各 50 pg(OCDD/F は 100 pg)、ノンオルトPCBs 各 125 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/Fs 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スカラムに注入し、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、シリンジスパイク 500 μL(^{13}C 標識体 2.5 ng)を添加し GC-MS/MS に供した。PCDD/Fs 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スカラムに注入し、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/Fs 及びノンオルト PCBs 分画を溶出した。溶媒を留去後、シリンジスパイク 25 μL(PCDD/Fs 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-(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:280℃

注入量:0.5 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:280℃

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:280℃

注入量:0.5 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)

【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:280 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/Fs)
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/Fs)
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(25 分-52 分):四～七塩化物
ゲイン:PCDD/Fs 測定時 1
Co-PCBs 測定時 0.1

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/Fs は5濃度、Co-PCBs は6濃度)に対して3回測定を実施し、PCDD/Fs 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-(APCI)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。また、操作ブランク試験を 5 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±10%以内、RRFss については±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

前処理は、前述の「3-1. 試験溶液の調製」に従った。高分解能 GC/MS 測定条件は、本年度の分担報告書「食品に含まれる残留性有機汚染物質等の摂取量推定及び汚染実態の把握に関する研究」(トータルダイエ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-(APCI)MS/MS 測定条件の検討

SRM 測定におけるモニターイオン及びコリジョンエネルギー(eV)(表 2)、及び使用した GC カラ

ムや昇温条件等については令和 6 年度の報告書[7]に従った。一方、APCI 法では高感度での測定が可能であったことから、BPX-DXNカラム及びRH-12msカラムを用いた測定では、注入量を0.5 μL に減じた。特に Co-PCBs については検量線用標準溶液の濃度が比較的高いことから、測定時のキャリーオーバーが問題となった。キャリーオーバーを低減するために、測定時における Co-PCBs の取り込み時間を変更するとともに、ゲインを 0.1 に変更した。

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/Fs の RRF は 0.858～1.094(変動係数は 2.9～8.6%)、RRFss は 0.387～1.259(変動係数は 4.9～9.5%)であった。Co-PCBs の RRF は 1.036～1.170(変動係数は 5.7～8.0%)、RRFss は 0.509～0.900(変動係数は 5.5～8.5%)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 8.6%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. ダイオキシン類分析の LOD 及び LOQ 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-(APCI)MS/MS 分析の試料測定時(50 g 使用時)の LOD 及び LOQ 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 LOD 及び LOQ 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 LOD 及び LOQ 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 LOD 及び LOQ 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/Fs の LOD は 0.001～0.004 pg/g、LOQ は 0.003～0.012 pg/g であった。Co-PCBs の LOD は 0.004～0.14 pg/g、LOQ は 0.015～0.46 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。

本分析法の試料測定時の LOD をガイドラインの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 LOQ 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. 畜水産物における GC-(APCI)MS/MS と高分解能 GC/MS による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-(APCI)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 併行の分析を行い、平均濃度と相対標準偏差(RSD)について比較した。なお、ボラ及び鶏卵については令和 6 年度の報告書[7]で用いた試料と同一であるため、高分解能 GC/MS によるダイオキシン類の分析値は同報告書に記載された値を引用した。

GC-(APCI)MS/MS の各異性体濃度の平均値は、高分解能 GC/MS の平均値に対して、ボラで 91～110%、牛肉で 91～110%、及び鶏卵で 91～111%であり、両法の分析値は良く一致していた。また、RSD もボラで 9.6%以内、牛肉で 7.9%以内、鶏卵で 13.3%以内であり、高分解能 GC/MS における RSD(ボラで 17.2%以内、牛肉で 13.9%以内、鶏卵で 15.1%以内)と比較しても、大きな値とはならなかった。各食品の SRM クロマトグラム(定量イオン)の一例を図 3、図 4、図 5、図 6、図 7 及び図 8 に示した。いずれの食品試料においても、1,2,3,4,7,8-HxCDF や PCB 123 等の近傍に分析対象物質以外の比較的大きなピークが認められた。また、ボラにおいては、PCB 77 及び PCB 126 の内標準物質($^{13}C_{12}$-PCB 77 及び $^{13}C_{12}$-PCB 126)の近傍に分析対象物質以外のピークが接近して認められた。これらの異性体についてはピ

ークの同定に注意を要したが、定量は可能であった。LOQ 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。

5. 畜水産物を対象とした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。既知量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 LOD を超えて検出されたダイオキシン類については、添加試料の分析値から未添加試料の分析値を差し引いた値を用いて、真度及び併行精度を推定した。これらの 3 種の食品試料における PCDD/Fs の真度は 85～103%、併行精度は 9.6%以下であった。また、Co-PCBs の真度は 86～105%、併行精度は 7.1%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、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)。

6. 認証標準試料及び品質管理試料の分析

GC-(APCI)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及び品質管理試料を分析した。

認証標準試料(WMF-01:キングサーモン切り身)を分析した結果を表 9 に示した。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 LOQ 以上の分析値が得られ、認証値の平均値±2SD の範囲内であった。また、LOQ 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±2SD の範囲内であった。なお、PCB 118 については、測定時のイオン強度が非常に高く、定量性に影響を及ぼす可能性があったことから、試料溶液を 10 倍希釈したうえで測定した。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 9 及び図 10)、LOQ 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。

品質管理試料(T06149QC:サケ切り身、T06133QC:タラ肝油、及び T06148QC:乳児用調製粉乳)を 2 併行分析した結果を表 10 に示した。いずれの品質管理試料においても、分析対象とした全てのダイオキシン類について LOQ 以上の分析値が得られた。得られた分析値は、各品質管理試料の添付書に示された z スコア評価において満足な結果(|z|≤2)とされる範囲内であった。また、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(図 11、図 12、図 13、図 14、図 15 及び図 16)。以上の結果から、本分析法により得られた分析値の信頼性は高いものと考えられた。

D. 結論

ボラ、牛肉、及び鶏卵を用いて GC-(APCI)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、両法の分析値は良く一致した。また、マグロ、牛肉、及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、認証標準試料及び品質管理試料を分析した結果、LOQ 以上となった異性体の分析値はすべて許容範囲内であった。以上の結果から、本分析法は畜水産物中のダイオキシン類分析法として有用であると考えられた。

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(GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の研究)
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(GC-MS/MS を用いた食品中のダイオキシン類分析の研究)
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 による食品中のダイオキシン類分析の検討)
8) van Bavel B, Geng D, Cherta L, Nácher-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)
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)

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 天斉, 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法の性能評価. 第 33 回環境化学討論会(2025.7).

表 1 検量線用標準溶液の組成と濃度

表1-1) PCDD/Fs

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 SRM 測定におけるモニターイオンとコリジョンエネルギー

表2-1）PCDD/Fs

化合物			定量イオン		定性イオン	
			SRM transition (*m/z*)	CE (eV)	SRM transition (*m/z*)	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 1,2,3,6,7,8-HxCDD 1,2,3,7,8,9-HxCDD	389.8 > 326.9	32	391.8 > 328.8	32
		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 2,3,4,7,8-PeCDF	339.9 > 276.9	39	337.9 > 274.9	39
		1,2,3,4,7,8-HxCDF 1,2,3,6,7,8-HxCDF 1,2,3,7,8,9-HxCDF 2,3,4,6,7,8-HxCDF	373.8 > 310.9 (373.8 > 310.9)*	39	375.8 > 312.9 (371.8 > 308.9)	39
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	407.8 > 344.8	39	409.8 > 346.8	39
		OCDF	441.7 > 378.8	40	443.7 > 380.8	40
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 $^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDD $^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDD	401.9 > 337.9	32	403.9 > 339.9	32
		$^{13}C_{12}$-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 $^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-PeCDF	351.9 > 287.9	39	349.9 > 285.9	39
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDF $^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDF $^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDF $^{13}C_{12}$-2,3,4,6,7,8-HxCDF	385.9 > 321.9	39	383.9 > 319.9	39
		$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF $^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	419.8 > 355.9	39	421.8 > 357.9	39
		$^{13}C_{12}$-OCDF	453.8 > 389.8	40	455.8 > 391.8	40
内標準物質 （シリンジスパイク）		$^{13}C_{12}$-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 (*m/z*)	CE (eV)	SRM transition (*m/z*)	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)	323.9 > 253.9	34	325.9 > 255.9	34
		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	36	357.9 > 287.9	36
		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)	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)	335.9 > 265.9	34	337.9 > 267.9	34
		$^{13}C_{12}$-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	36	369.9 > 299.9	36
		$^{13}C_{12}$-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)	405.9 > 335.9	39	407.8 > 337.9	39
内標準物質 (シリンジスパイク)		$^{13}C_{12}$-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 RRFss

表3-1）PCDD/Fs

PCDD/Fs		RRF 平均値	RRF変動係数 (%)	RRFss 平均値	RRFss変動係数 (%)
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	0.969	4.0	1.207	4.9
	1,2,3,7,8-PeCDD	1.000	3.6	1.182	6.2
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.858	7.4	1.080	6.3
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.890	4.7	1.103	7.7
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.898	5.8	1.022	6.8
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1.094	3.2	0.698	6.1
	OCDD	1.008	3.1	0.427	5.8
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	0.981	7.3	1.259	9.5
	1,2,3,7,8-PeCDF	1.083	7.3	1.172	7.8
	2,3,4,7,8-PeCDF [1)]	1.059	2.9	1.108	7.3
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.014	7.8	0.997	8.9
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.971	6.0	1.036	8.1
	1,2,3,7,8,9-HxCDF [1)]	0.914	7.2	1.017	9.3
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.884	5.8	1.140	7.9
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.031	7.0	0.830	7.2
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.998	8.6	0.505	8.7
	OCDF	0.965	4.8	0.387	8.1

1) RH-12ms測定データ

表3-2) Co-PCBs

Co-PCBs		RRF 平均値	RRF変動係数 (%)	RRFss 平均値	RRFss変動係数 (%)
ノンオルトPCBs	3,3',4,4'-TeCB(#77)	1.170	5.7	0.872	6.8
	3,4,4',5-TeCB(#81)	1.112	7.3	0.900	6.9
	3,3',4,4',5-PeCB(#126)	1.110	7.8	0.612	8.5
	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	1.085	6.6	0.547	6.7
モノオルトPCBs	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	1.073	5.9	0.706	7.4
	2,3,4,4',5-PeCB(#114)	1.072	7.3	0.671	6.7
	2,3',4,4',5-PeCB(#118)	1.113	6.2	0.659	5.8
	2',3,4,4',5-PeCB(#123)	1.068	7.3	0.710	6.5
	2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	1.036	8.0	0.618	6.5
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	1.052	7.2	0.657	5.5
	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	1.124	6.3	0.612	5.5
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	1.039	6.4	0.509	6.6

表 4 試料測定時の LOD 及び LOQ

表4-1）PCDD/Fs

PCDD/Fs		LOD[1)] (pg/g)	LOQ[1)] (pg/g)	目標検出下限[2)] (pg/g)
PCDDs	2,3,7,8-TeCDD	0.001	0.004	0.01
	1,2,3,7,8-PeCDD	0.001	0.005	0.01
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.002	0.007	0.02
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.002	0.006	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	0.007	0.02
	OCDD	0.004	0.012	0.05
PCDFs	2,3,7,8-TeCDF	0.001	0.004	0.01
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.001	0.004	0.01
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.001	0.003	0.01
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.003	0.008	0.02
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.002	0.006	0.02
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.002	0.007	0.02
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.002	0.006	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	0.006	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		LOD[1)] (pg/g)	LOQ[1)] (pg/g)	目標検出下限[2)] (pg/g)
ノンオルトPCBs	3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.006	0.020	0.1
	3,4,4',5-TeCB(#81)	0.005	0.015	0.1
	3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.005	0.016	0.1
	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.004	0.015	0.1
モノオルトPCBs	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	0.14	0.46	1
	2,3,4,4',5-PeCB(#114)	0.09	0.31	1
	2,3',4,4',5-PeCB(#118)	0.11	0.35	1
	2',3,4,4',5-PeCB(#123)	0.10	0.32	1
	2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	0.08	0.27	1
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	0.13	0.43	1
	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	0.06	0.21	1
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	0.08	0.28	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-(APCI)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）				
		GC-(APCI)MS/MS(A)		高分解能GC/MS(B)		比率, %
		Mean±SD, pg/g	RSD, %	Mean±SD, pg/g	RSD, %	(A/B)
PCDDs	2378-TeCDD	0.27 ± 0.019	7.0	0.25 ± 0.023	9.2	107
	12378-PeCDD	0.43 ± 0.022	5.2	0.41 ± 0.022	5.4	107
	123478-HxCDD	0.084 ± 0.0047	5.6	0.093 ± 0.0087	9.4	91
	123678-HxCDD	0.21 ± 0.0068	3.3	0.21 ± 0.021	10.1	98
	123789-HxCDD	0.049 ± 0.0016	3.3	0.052 ± 0.0044	8.5	94
	1234678-HpCDD	0.15 ± 0.010	6.5	0.16 ± 0.018	11.3	98
	OCDD	0.24 ± 0.011	4.5	0.24 ± 0.016	6.9	100
PCDFs	2378-TeCDF	2.0 ± 0.13	6.4	1.9 ± 0.070	3.7	108
	12378-PeCDF	0.20 ± 0.010	5.0	0.19 ± 0.020	10.6	105
	23478-PeCDF	0.95 ± 0.050	5.3	0.86 ± 0.063	7.3	110
	123478-HxCDF	0.078 ± 0.0075	9.6	0.085 ± 0.015	17.2	92
	123678-HxCDF	0.072 ± 0.0030	4.2	0.069 ± 0.0080	11.7	105
	123789-HxCDF	nd [1)]	–	nd	–	–
	234678-HxCDF	0.12 ± 0.0076	6.4	0.11 ± 0.0088	7.9	107
	1234678-HpCDF	0.042 ± 0.0017	4.0	0.044 ± 0.0053	12.0	96
	1234789-HpCDF	nd	–	nd	–	–
	OCDF	tr [2)]	–	nd	–	–
ノンオルトPCBs	33'44'-TeCB (#77)	178 ± 10.1	5.7	172 ± 6.2	3.6	103
	344'5-TeCB (#81)	17 ± 0.65	3.9	16 ± 0.85	5.3	105
	33'44'5-PeCB (#126)	26 ± 0.92	3.5	25 ± 0.85	3.4	105
	33'44'55'-HxCB (#169)	1.8 ± 0.039	2.1	1.7 ± 0.10	6.0	109
モノオルトPCBs	233'44'-PeCB (#105)	2659 ± 64	2.4	2594 ± 89	3.4	103
	2344'5-PeCB (#114)	165 ± 7.6	4.6	168 ± 5.6	3.3	98
	23'44'5-PeCB (#118)	8548 ± 481	5.6	8451 ± 234	2.8	101
	2'344'5-PeCB (#123)	151 ± 6.1	4.1	151 ± 8.2	5.4	100
	233'44'5-HxCB (#156)	755 ± 27	3.6	764 ± 14	1.8	99
	233'44'5'-HxCB (#157)	178 ± 6.7	3.7	196 ± 7.1	3.6	91
	23'44'55'-HxCB (#167)	393 ± 22	5.5	397 ± 9.1	2.3	99
	233'44'55'-HpCB (#189)	57 ± 3.7	6.5	54 ± 1.7	3.2	104

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

表 6 GC-(APCI)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）				
		GC-(APCI)MS/MS（A）		高分解能GC/MS（B）		比率, %
		Mean±SD, pg/g	RSD, %	Mean±SD, pg/g	RSD, %	（A/B）
PCDDs	2378-TeCDD	0.048 ± 0.0025	5.1	0.044 ± 0.0043	9.9	110
	12378-PeCDD	0.42 ± 0.021	5.1	0.40 ± 0.0082	2.0	104
	123478-HxCDD	0.45 ± 0.017	3.8	0.43 ± 0.010	2.3	104
	123678-HxCDD	1.3 ± 0.042	3.3	1.3 ± 0.058	4.5	97
	123789-HxCDD	0.69 ± 0.029	4.3	0.69 ± 0.019	2.8	100
	1234678-HpCDD	8.0 ± 0.30	3.8	8.5 ± 0.25	2.9	94
	OCDD	41 ± 1.4	3.4	40 ± 1.2	2.9	101
PCDFs	2378-TeCDF	0.0071 ± 0.00025	3.6	0.0070 ± 0.00067	9.6	100
	12378-PeCDF	0.0078 ± 0.00056	7.2	0.0074 ± 0.0010	13.6	106
	23478-PeCDF	0.16 ± 0.0033	2.0	0.16 ± 0.0042	2.6	99
	123478-HxCDF	0.43 ± 0.016	3.8	0.45 ± 0.0089	2.0	95
	123678-HxCDF	0.28 ± 0.011	3.8	0.31 ± 0.0082	2.7	91
	123789-HxCDF	nd [1)]	–	nd	–	
	234678-HxCDF	0.41 ± 0.033	7.9	0.41 ± 0.027	6.5	102
	1234678-HpCDF	1.1 ± 0.066	6.2	1.1 ± 0.039	3.6	100
	1234789-HpCDF	0.12 ± 0.0084	6.8	0.12 ± 0.0077	6.7	108
	OCDF	0.27 ± 0.012	4.6	0.29 ± 0.0083	2.8	91
ノンオルトPCBs	33'44'-TeCB (#77)	0.18 ± 0.013	7.2	0.17 ± 0.0070	4.0	103
	344'5-TeCB (#81)	0.11 ± 0.0072	6.7	0.10 ± 0.010	9.9	103
	33'44'5-PeCB (#126)	0.67 ± 0.028	4.2	0.61 ± 0.028	4.5	109
	33'44'55'-HxCB (#169)	0.17 ± 0.0044	2.5	0.18 ± 0.012	6.7	94
モノオルトPCBs	233'44'-PeCB (#105)	11 ± 0.28	2.6	11 ± 0.40	3.7	101
	2344'5-PeCB (#114)	1.4 ± 0.060	4.3	1.4 ± 0.076	5.6	101
	23'44'5-PeCB (#118)	48 ± 1.7	3.5	46 ± 1.4	3.0	105
	2'344'5-PeCB (#123)	1.1 ± 0.015	1.4	1.0 ± 0.14	13.9	109
	233'44'5-HxCB (#156)	4.0 ± 0.19	4.8	3.9 ± 0.11	2.7	103
	233'44'5'-HxCB (#157)	1.2 ± 0.034	2.7	1.3 ± 0.13	10.2	98
	23'44'55'-HxCB (#167)	2.0 ± 0.065	3.3	2.0 ± 0.10	4.9	102
	233'44'55'-HpCB (#189)	0.54 ± 0.033	6.0	tr [2)]		

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

表 7 GC-(APCI)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)				
		GC-(APCI)MS/MS(A)		高分解能GC/MS(B)		比率, %
		Mean±SD, pg/g	RSD, %	Mean±SD, pg/g	RSD, %	(A/B)
PCDDs	2378-TeCDD	0.022 ± 0.0020	8.9	0.024 ± 0.0019	7.7	92
	12378-PeCDD	0.096 ± 0.0033	3.5	0.088 ± 0.0079	8.9	109
	123478-HxCDD	0.029 ± 0.0014	4.7	0.031 ± 0.0046	15.1	95
	123678-HxCDD	0.20 ± 0.012	5.8	0.22 ± 0.014	6.4	94
	123789-HxCDD	0.055 ± 0.0042	7.5	0.060 ± 0.0033	5.5	92
	1234678-HpCDD	0.17 ± 0.0073	4.3	0.18 ± 0.0067	3.7	95
	OCDD	0.93 ± 0.039	4.2	0.88 ± 0.020	2.2	105
PCDFs	2378-TeCDF	0.089 ± 0.0073	8.2	0.088 ± 0.0073	8.4	101
	12378-PeCDF	0.039 ± 0.0017	4.2	0.041 ± 0.0017	4.1	96
	23478-PeCDF	0.088 ± 0.0064	7.2	0.085 ± 0.0062	7.3	104
	123478-HxCDF	0.025 ± 0.0024	9.6	0.028 ± 0.0042	14.9	91
	123678-HxCDF	0.024 ± 0.0013	5.3	0.025 ± 0.0023	9.2	96
	123789-HxCDF	nd [1]	–	nd	–	–
	234678-HxCDF	0.026 ± 0.0023	8.9	0.028 ± 0.0023	8.1	92
	1234678-HpCDF	0.029 ± 0.0016	5.5	0.028 ± 0.0017	6.0	102
	1234789-HpCDF	tr [2]		tr	–	–
	OCDF	0.018 ± 0.0024	13.3	tr	–	–
ノンオルトPCBs	33'44'-TeCB (#77)	1.6 ± 0.11	6.5	1.7 ± 0.062	3.6	96
	344'5-TeCB (#81)	0.19 ± 0.0033	1.8	0.17 ± 0.013	7.7	110
	33'44'5-PeCB (#126)	1.3 ± 0.074	5.6	1.3 ± 0.065	5.2	105
	33'44'55'-HxCB (#169)	0.45 ± 0.011	2.6	0.42 ± 0.027	6.5	106
モノオルトPCBs	233'44'-PeCB (#105)	28 ± 1.2	4.4	25 ± 0.86	3.4	109
	2344'5-PeCB (#114)	2.4 ± 0.21	9.0	2.3 ± 0.14	6.2	104
	23'44'5-PeCB (#118)	88 ± 4.4	5.1	87 ± 3.3	3.9	101
	2'344'5-PeCB (#123)	1.9 ± 0.15	7.8	1.9 ± 0.15	7.9	101
	233'44'5-HxCB (#156)	12 ± 0.86	6.9	12 ± 0.52	4.5	107
	233'44'5'-HxCB (#157)	3.7 ± 0.34	9.2	3.3 ± 0.26	7.9	111
	23'44'55'-HxCB (#167)	7.9 ± 0.21	2.7	7.1 ± 0.34	4.8	111
	233'44'55'-HpCB (#189)	2.2 ± 0.091	4.2	2.1 ± 0.15	7.4	106

1) nd: not detected

2) tr: trace (LOD≦tr＜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	103	5.8	0.1	102	5.8	0.1	102	5.0
	12378-PeCDD	0.05	100	5.1	0.1	100	4.0	0.1	96	9.6
	123478-HxCDD	0.1	91	6.5	0.2	93	4.5	0.2	91	3.8
	123678-HxCDD	0.1	86	6.7	0.2	87	5.1	0.2	88	3.7
	123789-HxCDD	0.1	90	2.8	0.2	97	2.9	0.2	88	5.5
	1234678-HpCDD	0.1	96	7.0	0.2	96	4.8	0.2	96	3.2
	OCDD	0.25	93	4.7	0.5	99	5.2	0.5	97	2.7
PCDFs	2378-TCDF	0.05	103	4.3	0.1	99	3.9	0.1	100	4.6
	12378-PeCDF	0.05	102	6.2	0.1	100	3.2	0.1	98	3.7
	23478-PeCDF	0.05	97	3.1	0.1	95	2.4	0.1	96	3.3
	123478-HxCDF	0.1	85	4.5	0.2	85	3.9	0.2	85	4.6
	123678-HxCDF	0.1	88	3.9	0.2	87	5.0	0.2	88	6.0
	123789-HxCDF	0.1	94	4.0	0.2	95	3.5	0.2	96	2.6
	234678-HxCDF	0.1	102	4.7	0.2	102	7.4	0.2	102	2.6
	1234678-HpCDF	0.1	93	7.1	0.2	98	2.5	0.2	91	3.0
	1234789-HpCDF	0.1	98	5.3	0.2	93	7.1	0.2	97	4.8
	OCDF	0.25	97	4.0	0.5	95	5.0	0.5	95	5.4
ノンオルトPCBs	33'44'-TCB (#77)	0.5	90	7.1	1	90	3.7	1	105	4.2
	344'5-TCB (#81)	0.5	97	6.2	1	96	3.3	1	105	4.9
	33'44'5-PeCB (#126)	0.5	90	4.7	1	93	5.0	1	93	7.0
	33'44'55'-HxCB (#169)	0.5	86	3.3	1	89	3.7	1	87	4.7
モノオルトPCBs	233'44'-PeCB (#105)	10	95	2.7	20	94	3.2	20	102	4.9
	2344'5-PeCB (#114)	10	95	4.0	20	99	4.1	20	104	3.2
	23'44'5-PeCB (#118)	10	93	3.7	20	91	2.1	20	96	2.9
	2'344'5-PeCB (#123)	10	94	2.3	20	97	6.2	20	102	5.3
	233'44'5-HxCB (#156)	10	96	4.5	20	93	6.1	20	96	4.6
	233'44'5'-HxCB (#157)	10	95	4.4	20	96	5.8	20	100	4.7
	23'44'55'-HxCB (#167)	10	92	5.1	20	95	3.7	20	95	3.5
	233'44'55'-HpCB (#189)	10	94	4.2	20	96	2.4	20	96	5.9

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	分析値 pg/g
2,3,7,8-TeCDD	13.1 ± 4.4	14
1,2,3,7,8-PeCDD	2.72 ± 1.3	2.8
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.22 *[1] ± 0.3	0.11
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.88 ± 0.4	0.90
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.27 * ± 0.4	0.082
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.59 * ± 0.7	0.21
OCDD	3.91 * ± 6.2	0.53
2,3,7,8-TeCDF	13.1 ± 4.9	14
1,2,3,7,8-PeCDF	1.53 * ± 1.4	1.0
2,3,4,7,8-PeCDF	7.15 ± 2.2	6.9
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.86 * ± 1.0	0.54
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.51 * ± 0.7	0.28
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.25 * ± 0.4	– [2]
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.68 * ± 1.2	0.22
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	2,096
3,4,4',5-TeCB(#81)	201 ± 58	180
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	739 ± 260	699
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	76 ± 30	70
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	49,050 ± 14,200	53,249
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	3,523 ± 1,670	3,628
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	130,100 ± 32,500	148,626
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	4,233 ± 2,620	4,257
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	14,890 ± 5,020	16,904
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	3,488 ± 870	4,334
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	9,750 ± 3,090	10,083
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	2,016 ± 611	2,079

1) * は参考値
2) LOD未満
3) tr: trace (LOD≦tr＜LOQ)

表 10 品質管理試料(T06149QC、T06133QC、T06148QC)の分析結果

ダイオキシン類	サケ切り身(T06149QC)				タラ肝油(T06133QC)				乳児用調製粉乳(T06148QC)			
	Assigned* value, pg/g	Range for z≤2* pg/g	分析値, pg/g 1st	2nd	Assigned* value, pg/g	Range for z≤2* pg/g	分析値, pg/g 1st	2nd	Assigned* value, pg/g	Range for z≤2* pg/g	分析値, pg/g 1st	2nd
2,3,7,8-TeCDD	1.08	0.61 – 1.56	1.22	1.23	0.262	0.147 – 0.377	0.290	0.277	0.170	0.095 – 0.245	0.207	0.194
1,2,3,7,8-PeCDD	0.547	0.307 – 0.788	0.498	0.500	0.133	0.074 – 0.192	0.124	0.113	0.0821	0.0459 – 0.1182	0.0811	0.0870
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.73	0.409 – 1.050	0.866	0.857	0.19	0.106 – 0.274	0.202	0.228	0.380	0.213 – 0.547	0.432	0.456
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1.84	1.03 – 2.65	2.07	1.97	0.48	0.269 – 0.691	0.497	0.499	0.291	0.163 – 0.419	0.352	0.363
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.521	0.292 – 0.750	0.605	0.625	0.149	0.083 – 0.215	0.158	0.144	0.0912	0.0510 – 0.1313	0.1039	0.1034
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.764	0.428 – 1.100	0.659	0.703	0.216	0.121 – 0.311	0.166	0.170	0.150	0.084 – 0.216	0.155	0.149
OCDD	2.81	1.58 – 4.05	2.86	2.69	0.743	0.416 – 1.070	0.709	0.738	0.630	0.353 – 0.907	0.674	0.646
2,3,7,8-TeCDF	16	9.0 – 23.1	16.5	16.2	3.68	2.06 – 5.30	4.35	4.20	2.41	1.35 – 3.48	2.50	2.50
1,2,3,7,8-PeCDF	3.11	1.74 – 4.48	2.56	2.64	0.84	0.470 – 1.210	0.675	0.659	0.484	0.271 – 0.697	0.421	0.454
2,3,4,7,8-PeCDF	5.26	2.95 – 7.58	5.21	5.06	1.2	0.67 – 1.73	1.11	1.17	0.792	0.443 – 1.140	0.798	0.785
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.31	0.74 – 1.89	1.23	1.25	0.348	0.195 – 0.501	0.304	0.316	0.226	0.127 – 0.325	0.221	0.232
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.76	0.99 – 2.54	1.76	1.95	0.473	0.265 – 0.681	0.464	0.412	0.283	0.158 – 0.408	0.288	0.299
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.592	0.332 – 0.853	0.540	0.583	0.151	0.085 – 0.217	0.146	0.162	0.412	0.231 – 0.593	0.455	0.431
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.06	0.59 – 1.53	1.27	1.19	0.268	0.150 – 0.386	0.299	0.283	0.181	0.101 – 0.261	0.222	0.219
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.18	1.22 – 3.13	1.92	1.97	0.563	0.315 – 0.810	0.529	0.463	0.396	0.222 – 0.570	0.362	0.354
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.912	0.511 – 1.314	0.862	0.932	0.225	0.126 – 0.324	0.225	0.228	0.354	0.198 – 0.510	0.354	0.300
OCDF	9.16	5.13 – 13.19	8.08	8.79	2.26	1.27 – 3.25	2.34	2.30	1.60	0.90 – 2.30	1.69	1.66
3,3',4,4'-TeCB(#77)	114	64 – 164	126	125	46.2	25.8 – 66.5	50.8	49.5	1.78	0.99 – 2.56	1.44	1.39
3,4,4',5-TeCB(#81)	28.9	16.2 – 41.6	30.0	28.8	12.3	6.9 – 17.8	13.0	13.2	2.81	1.58 – 4.05	2.75	2.86
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	20.5	11.5 – 29.6	18.9	19.9	8.05	4.51 – 11.58	7.68	7.77	0.819	0.459 – 1.179	0.597	0.639
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	24.4	13.7 – 35.1	19.9	20.8	11.5	6.4 – 16.5	10.4	10.2	22.6	12.7 – 32.6	20.0	19.3
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	1290	723 – 1860	1236	1327	924	517 – 1330	851	883	1110	621 – 1600	1199	1219
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	155	87 – 223	164	165	97.4	54.5 – 140.2	99.2	91.9	526	295 – 757	553	535
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	4010	2250 – 5780	3928	4313	2890	1620 – 4150	3079	2913	360	202 – 518	326	351
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	226	126 – 325	208	216	107	60 – 153	105	107	883	495 – 1270	915	963
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	1070	599 – 1540	1258	1165	754	422 – 1090	836	803	180	101 – 259	187	189
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	129	72 – 186	149	138	132	74 – 190	144	135	1470	822 – 2110	1660	1720
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	418	234 – 602	372	378	348	195 – 500	327	314	1210	676 – 1740	1153	1208
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	647	362 – 932	603	598	330	185 – 474	321	315	650	364 – 936	703	649

*: 各品質管理試料の添付書をもとに記載

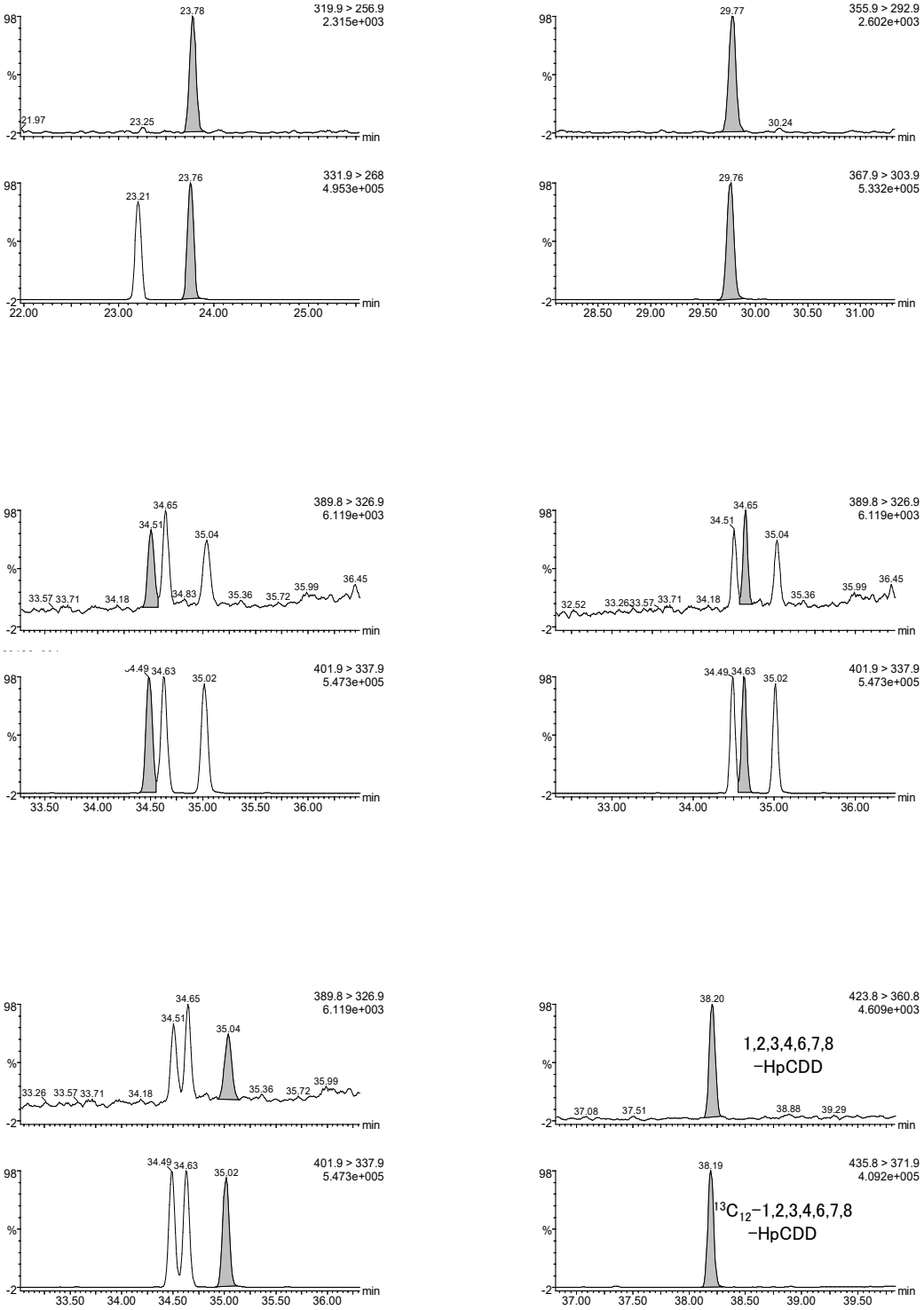


図 1　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）

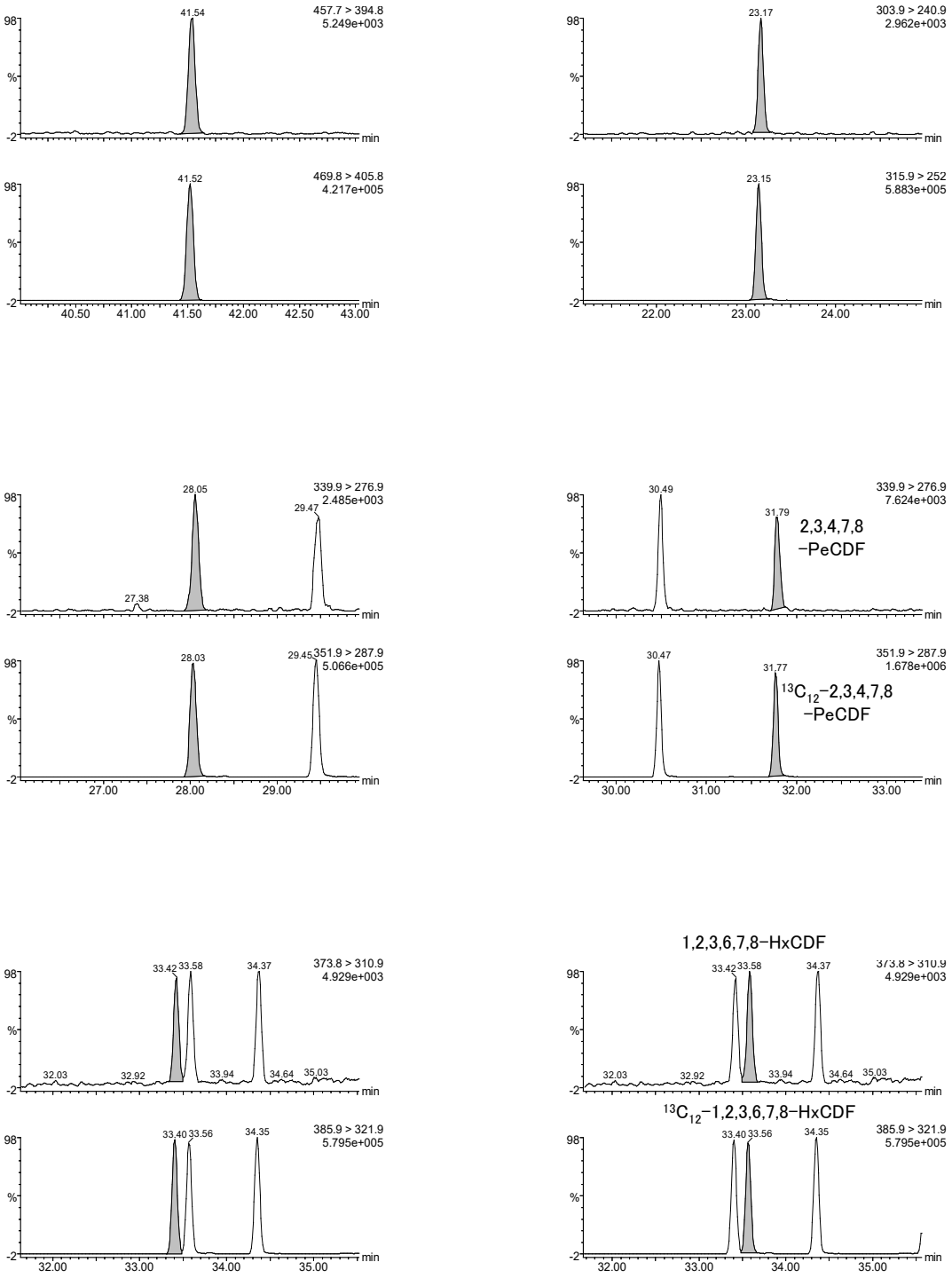


図 1 検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

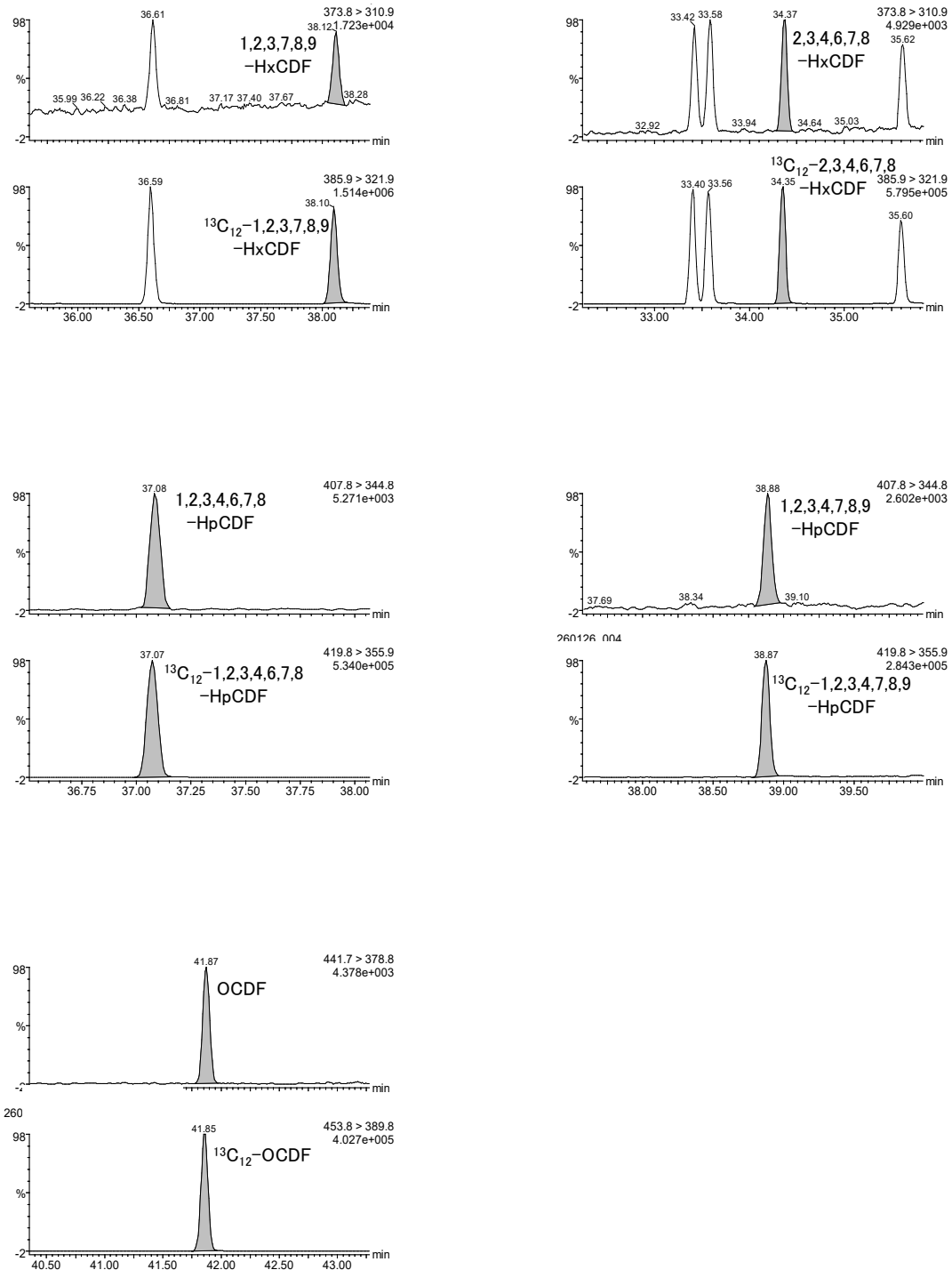


図 1　検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

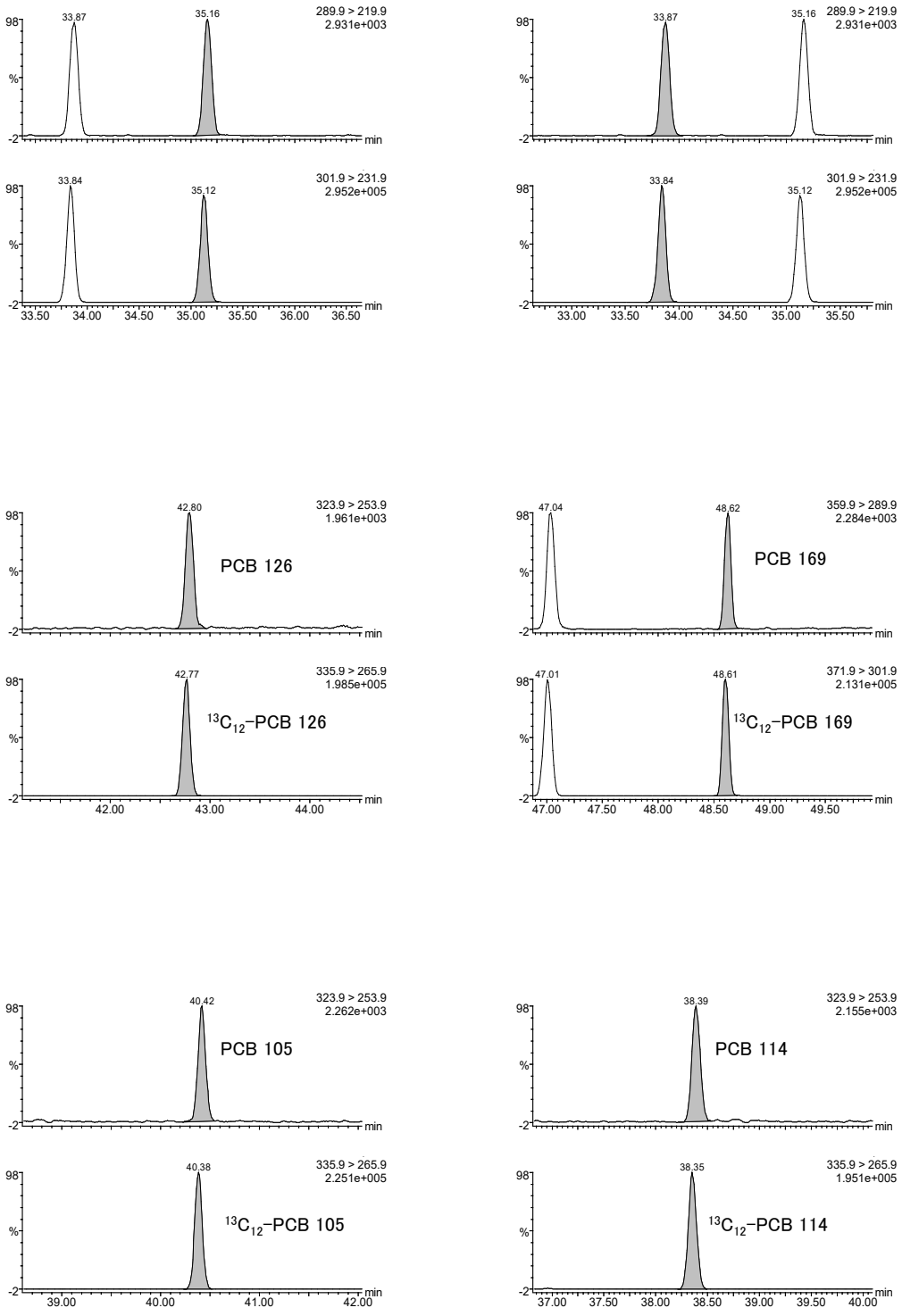


図 2 検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

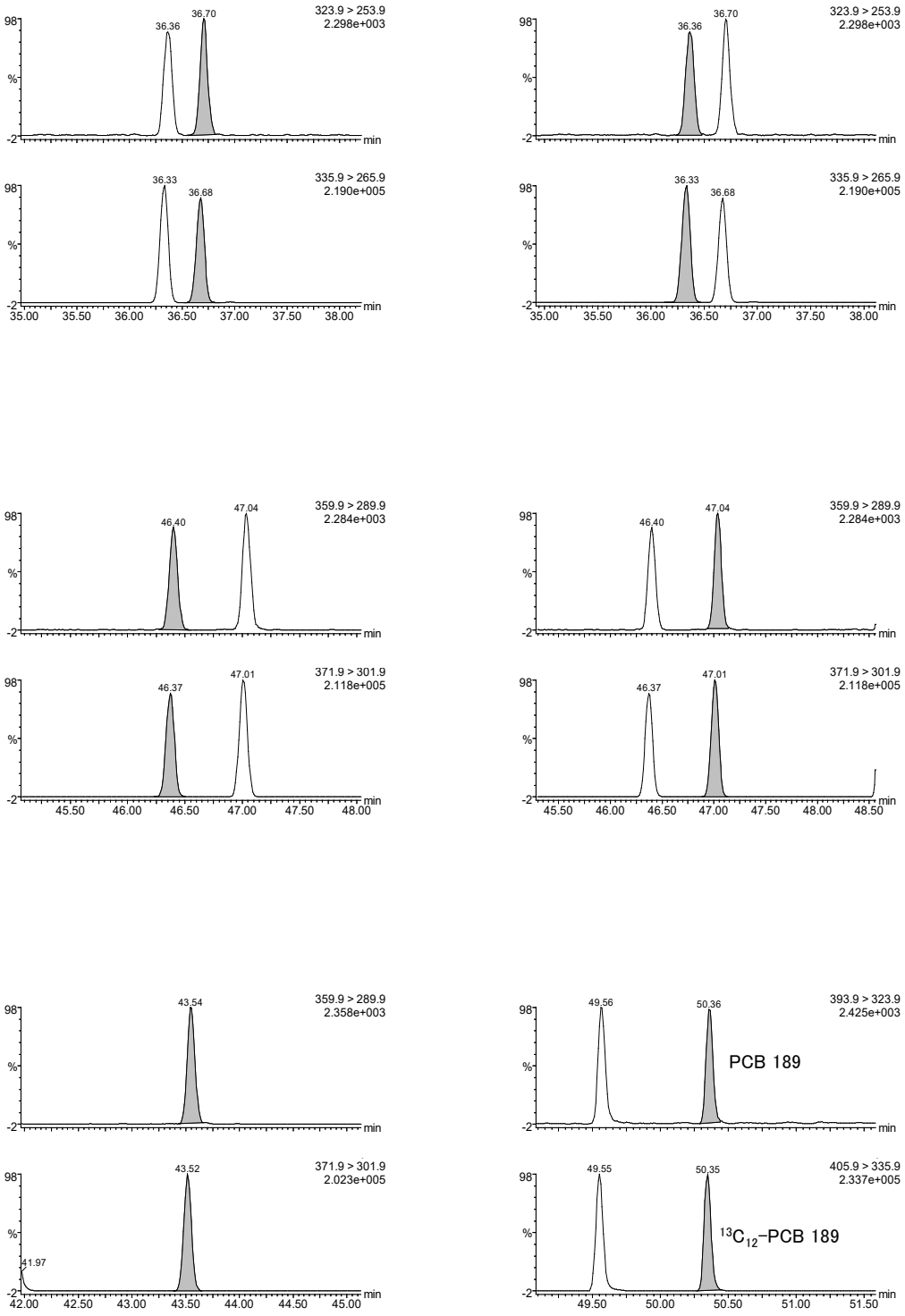


図 2 検量線用標準溶液（Conc.1）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

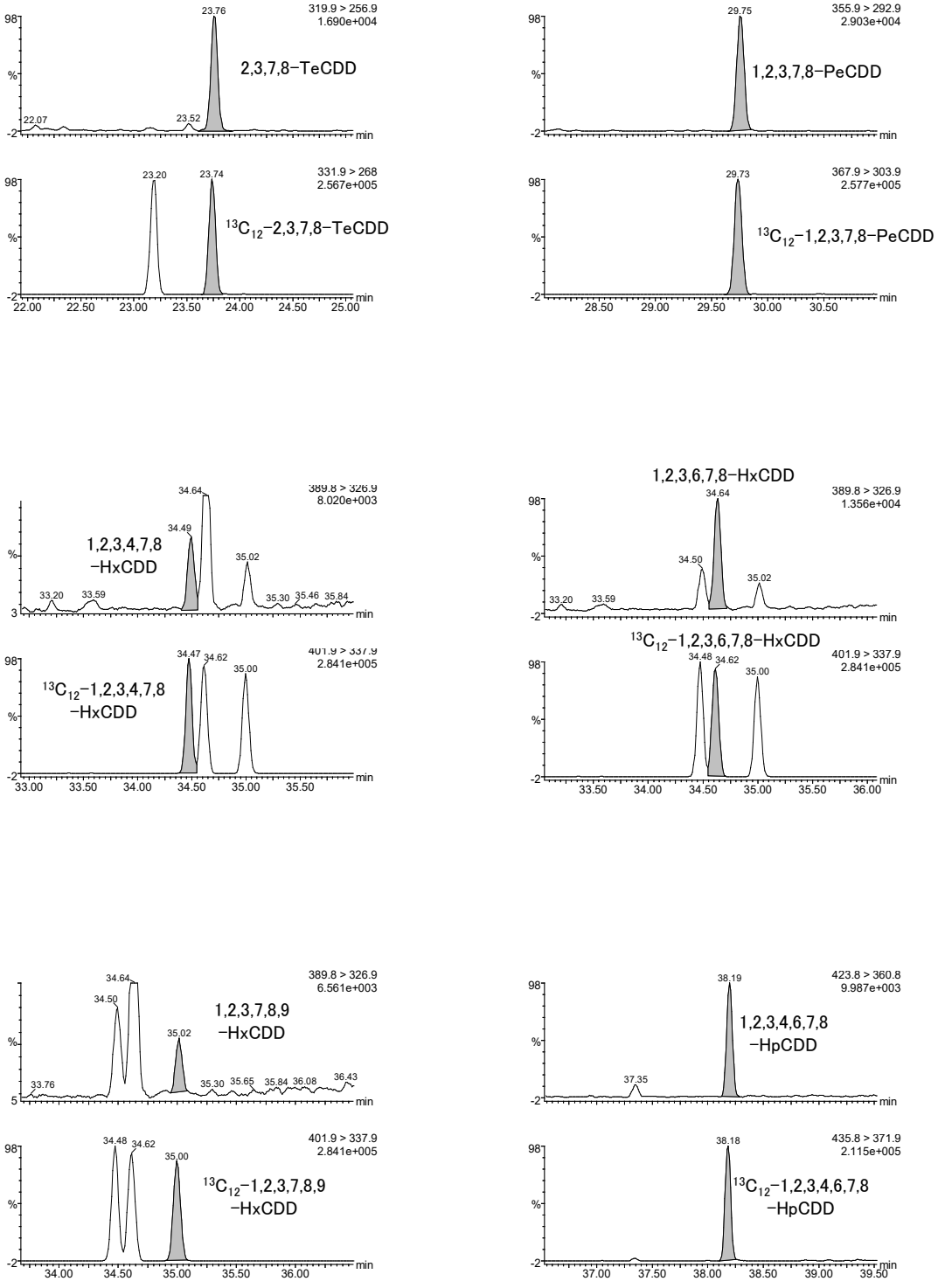


図 3 ボラの SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）

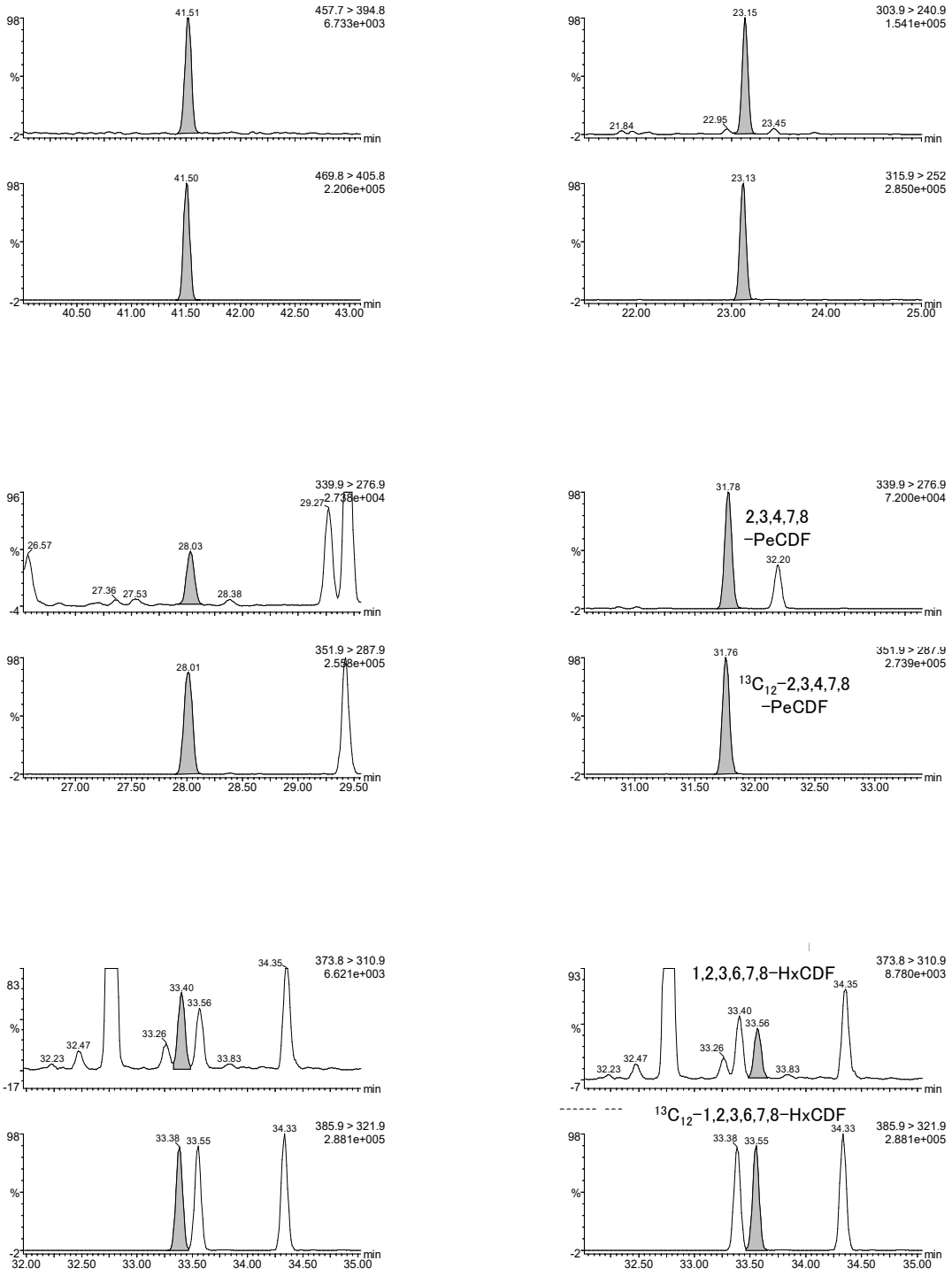


図 3 ボラの SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

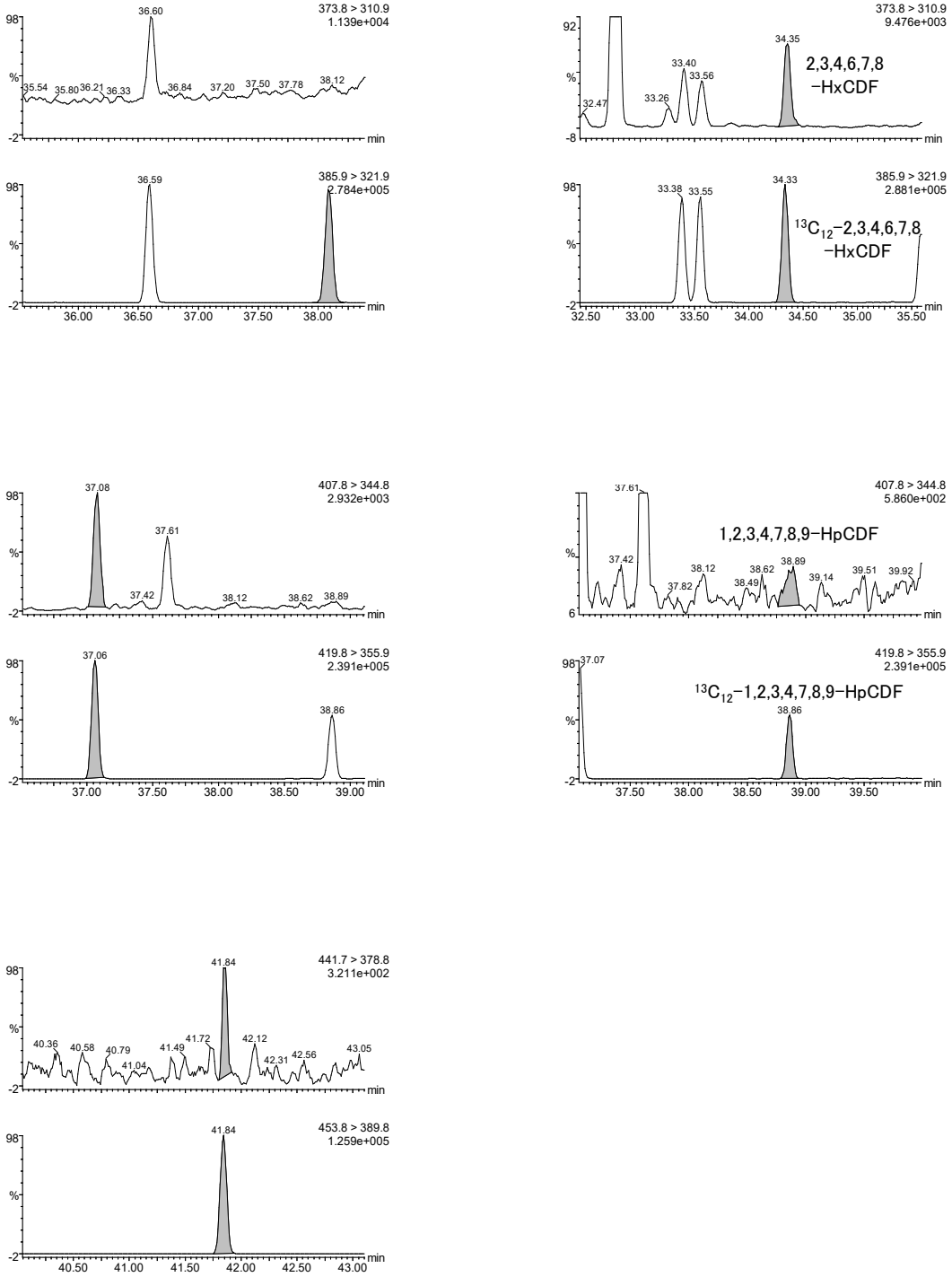


図 3 ボラの SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

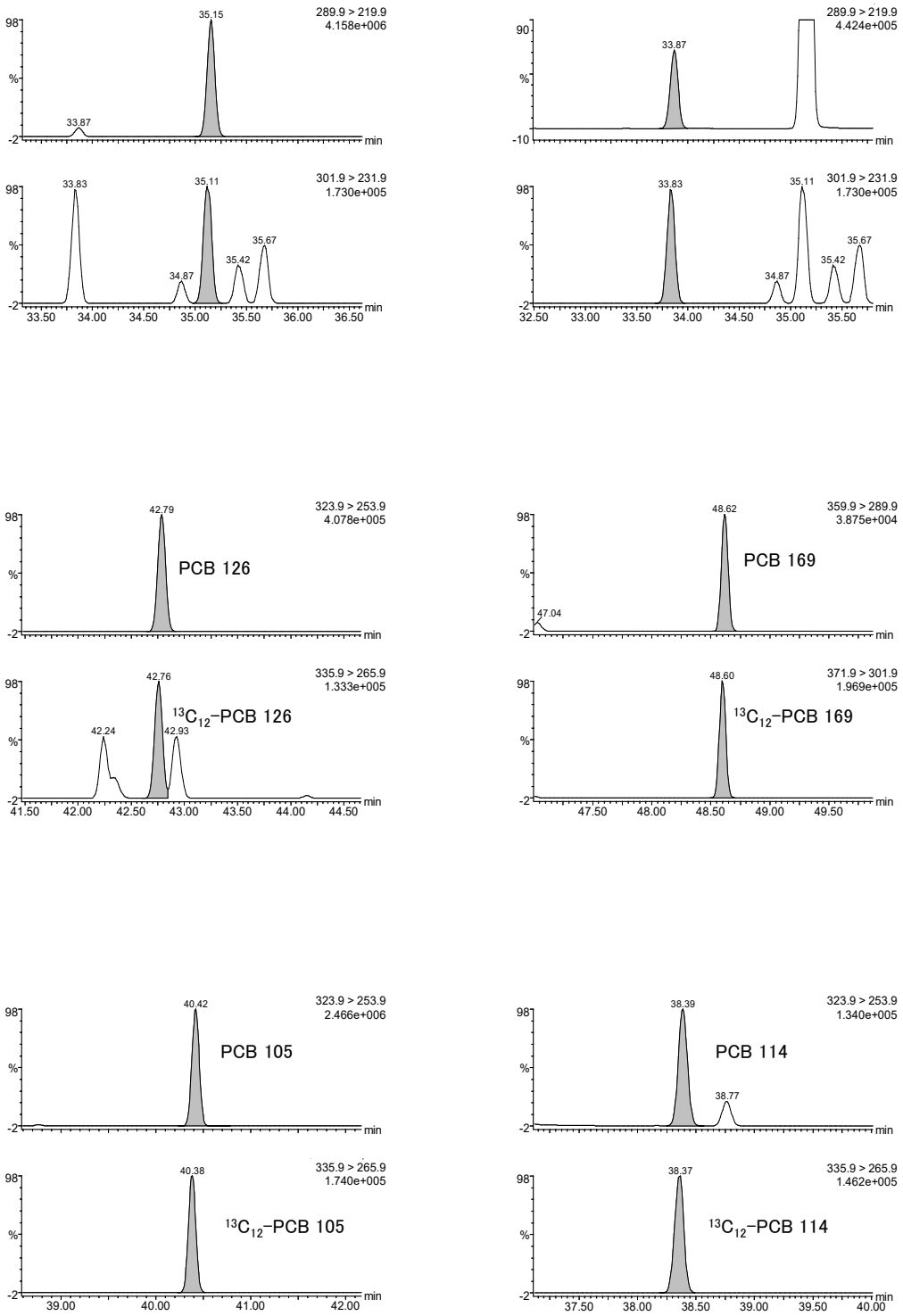


図 4 ボラの SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

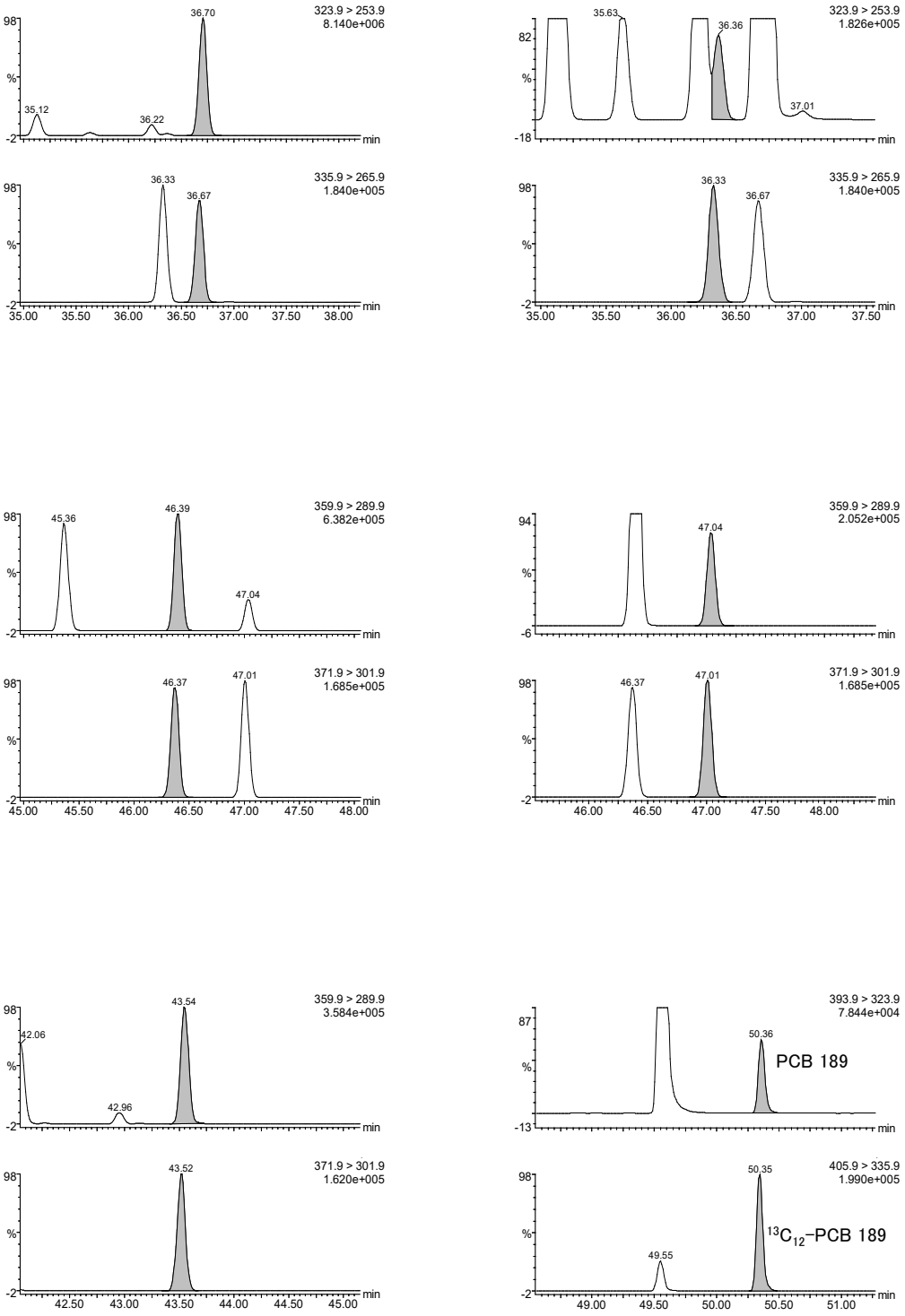


図 4 ボラの SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

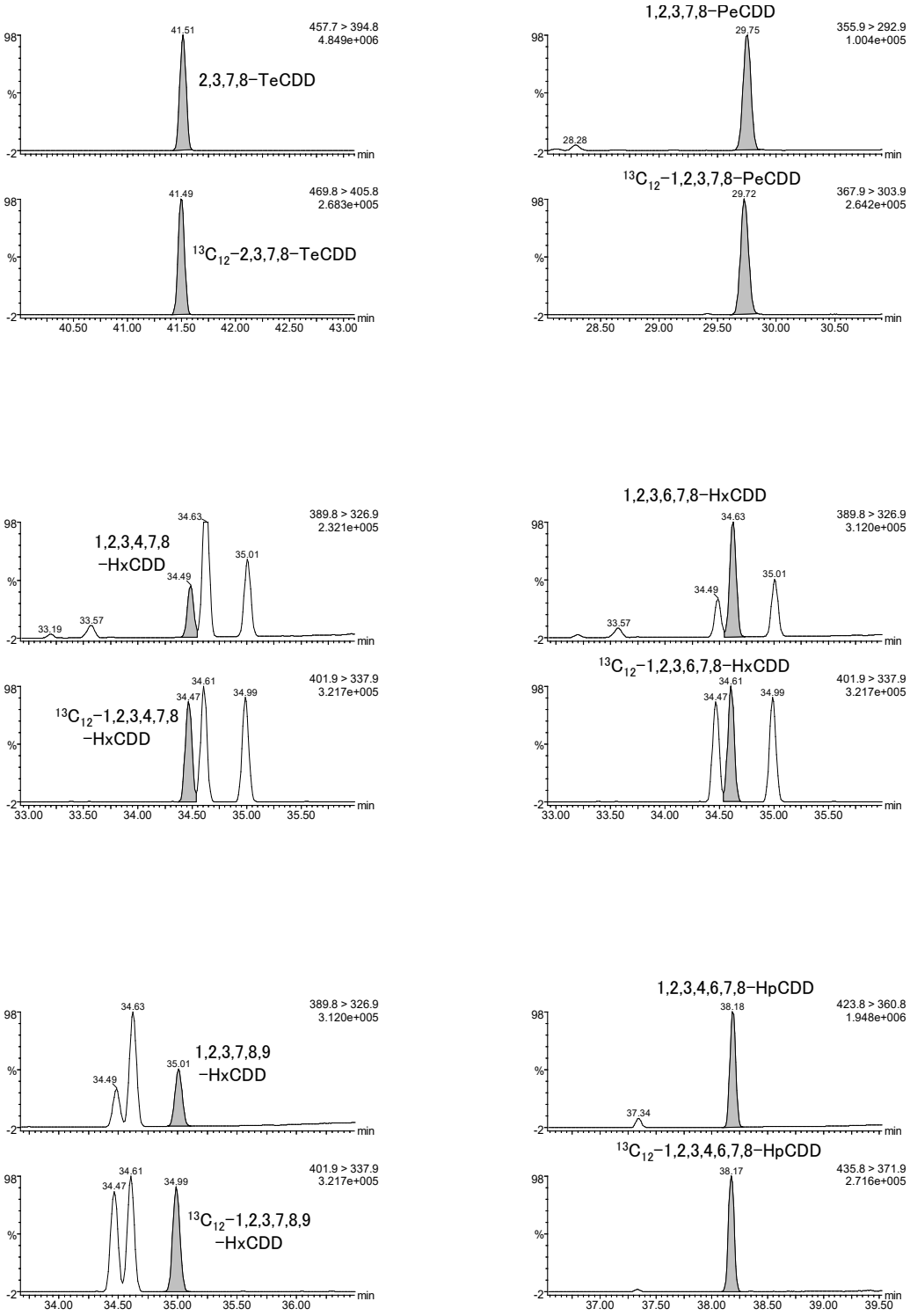


図 5 牛肉の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）

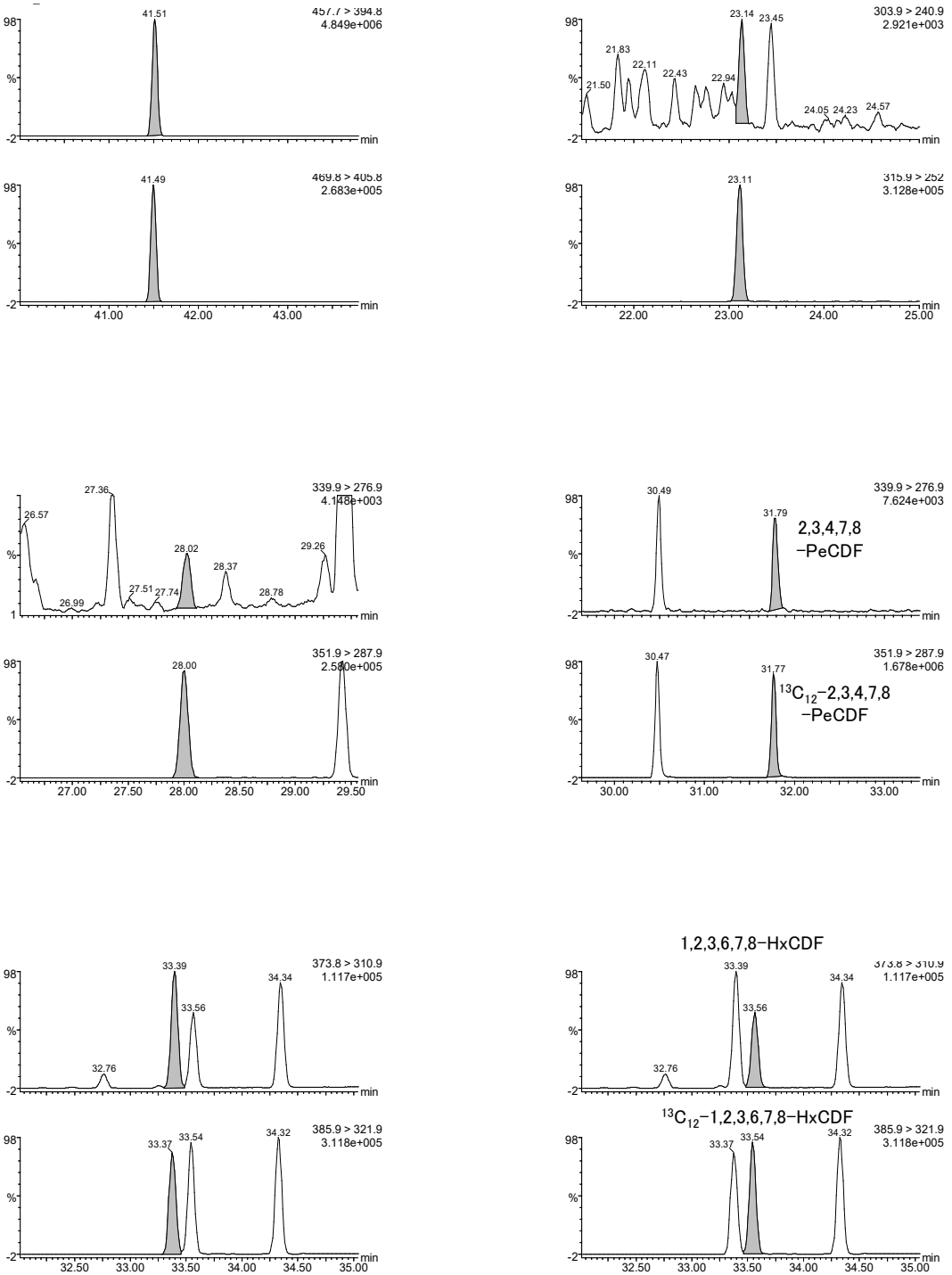


図 5 牛肉の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

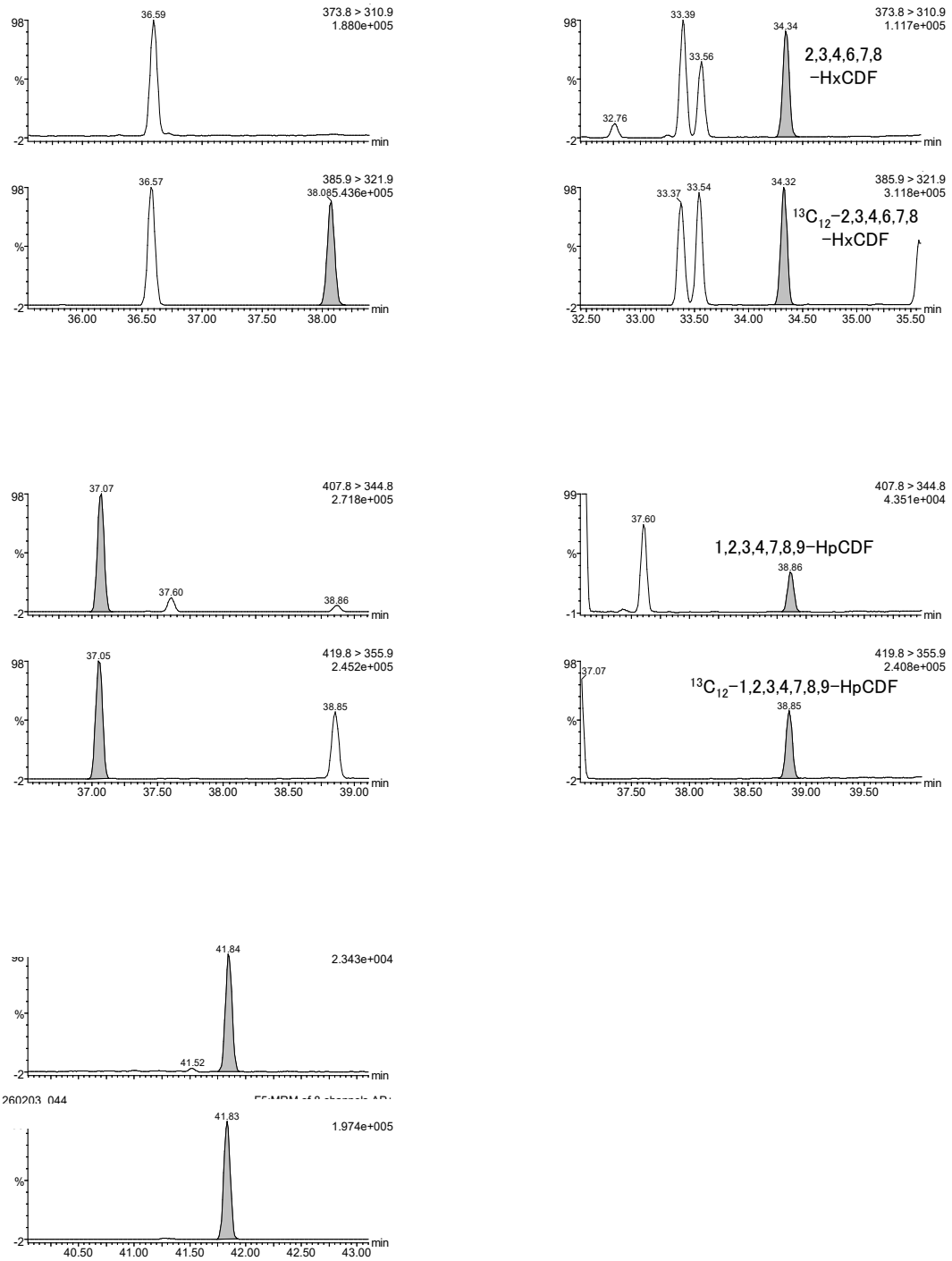


図 5 牛肉の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

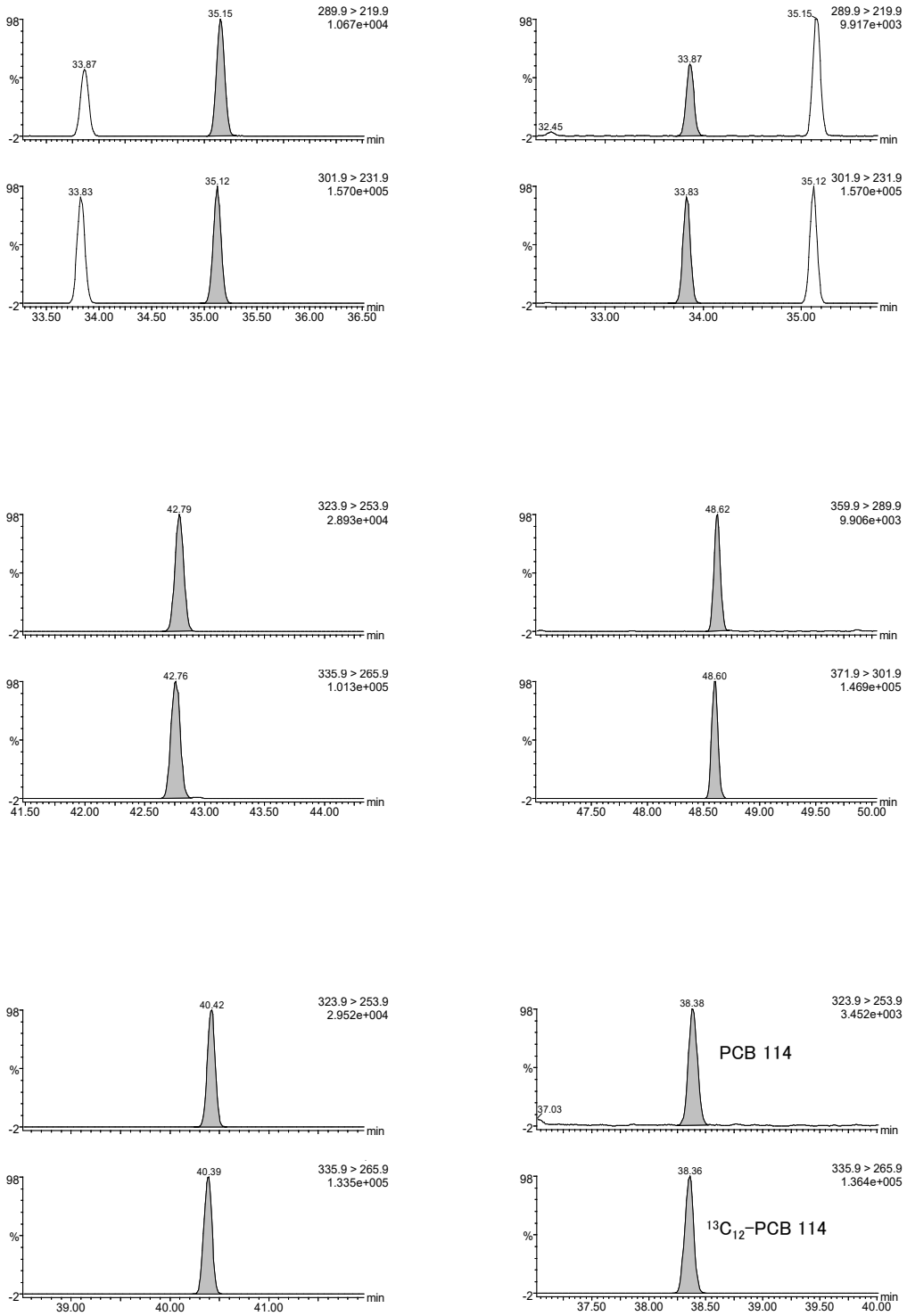


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

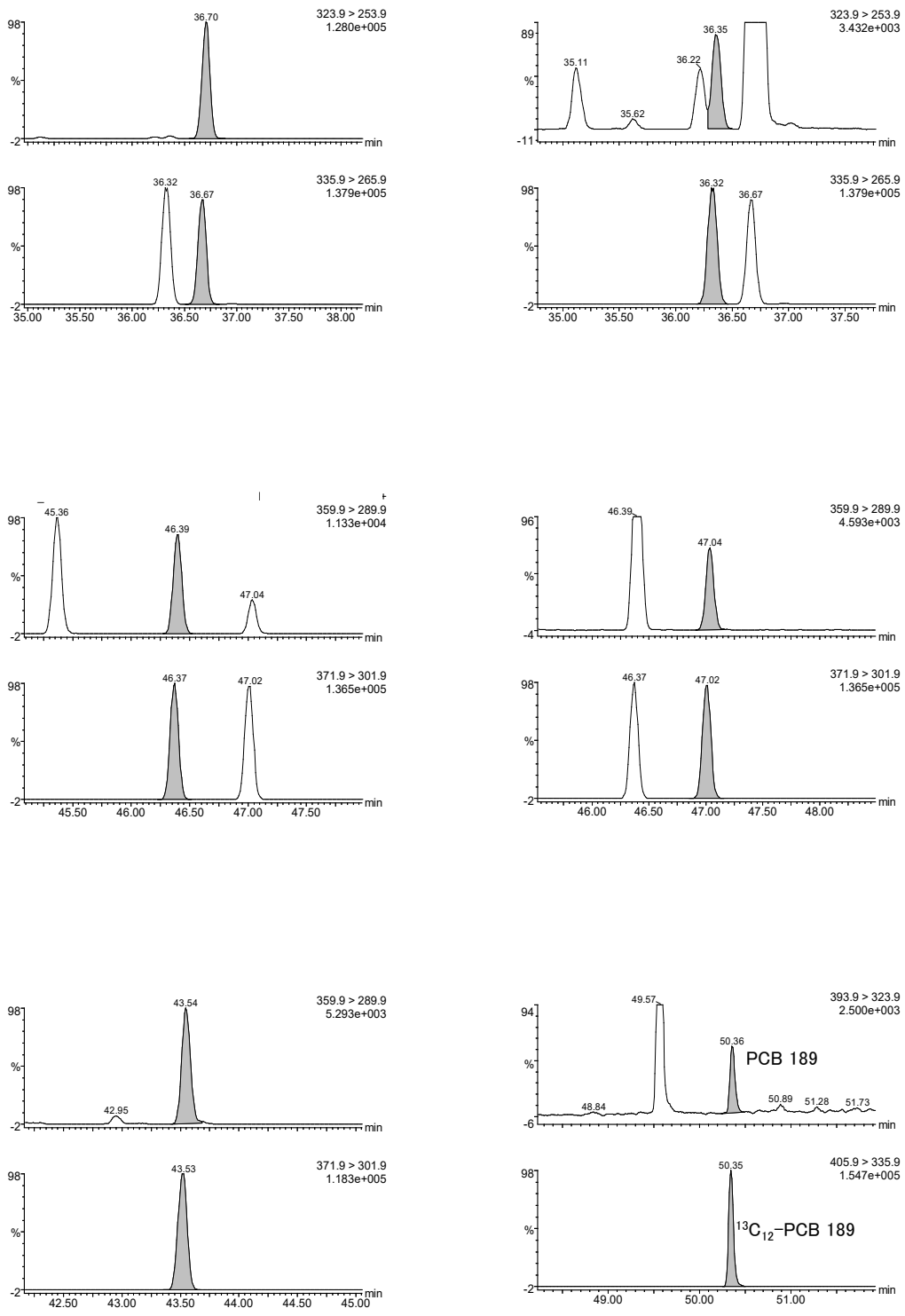


図 6 牛肉の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

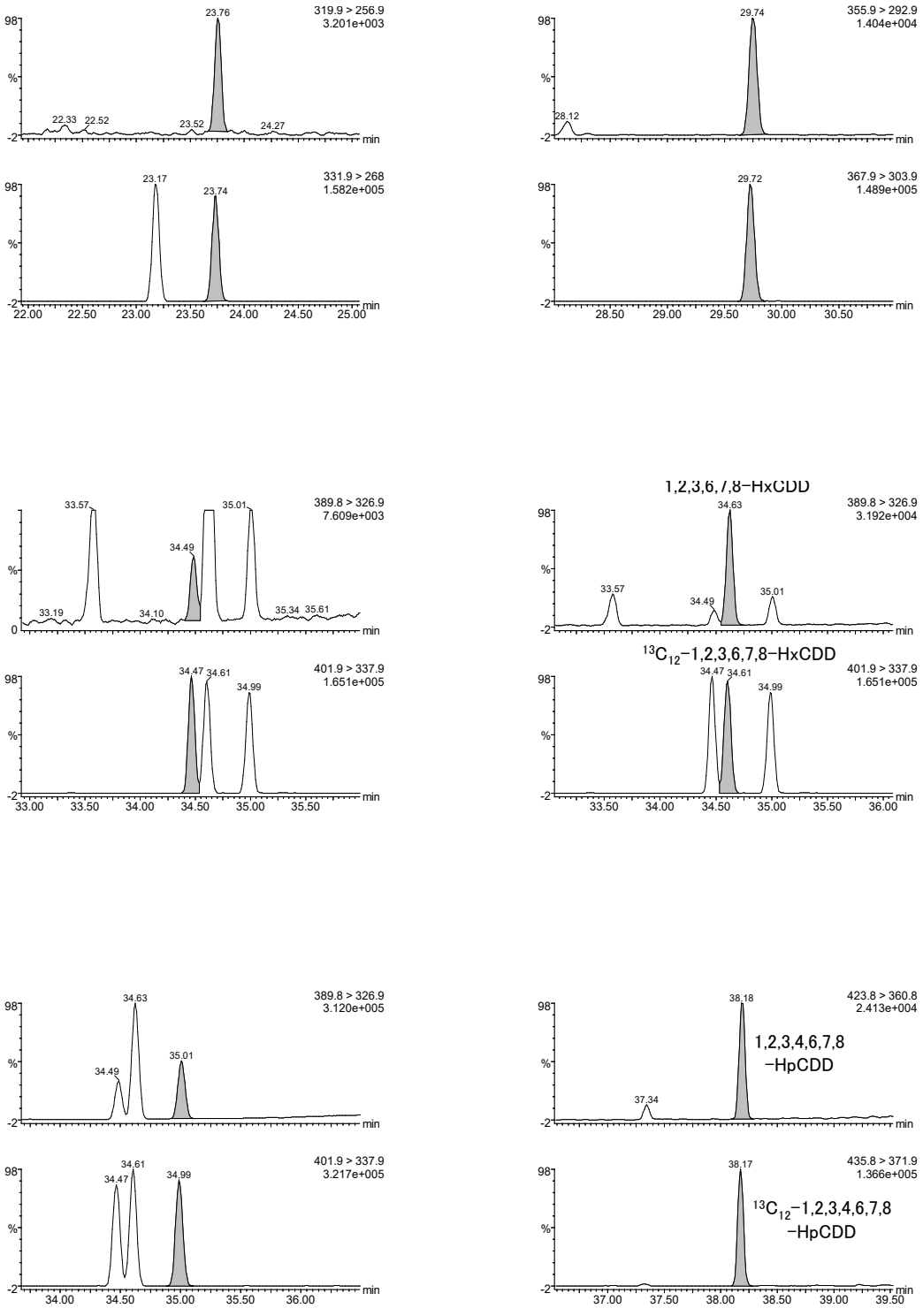


図 7 鶏卵の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）

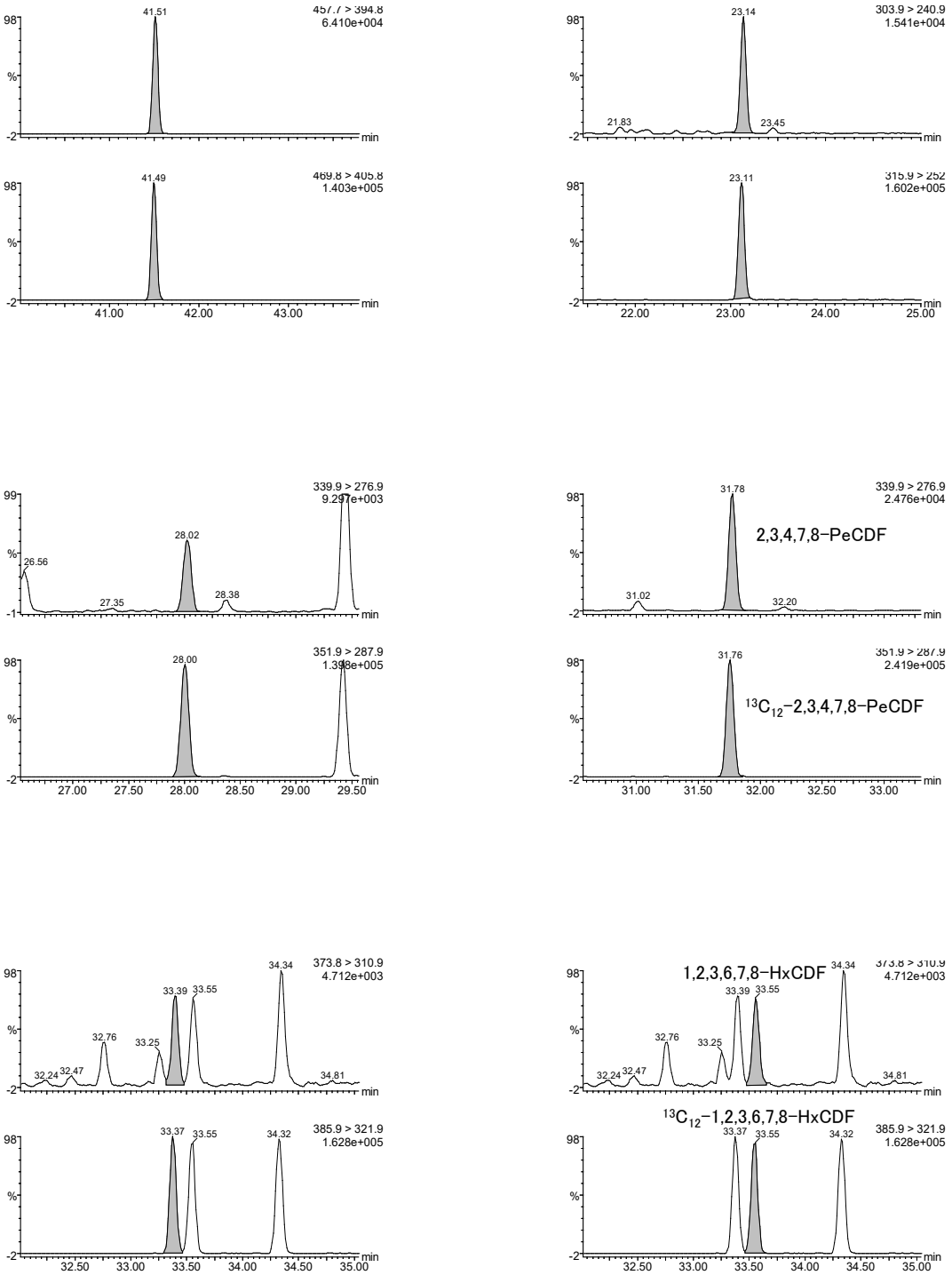


図 7 鶏卵の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

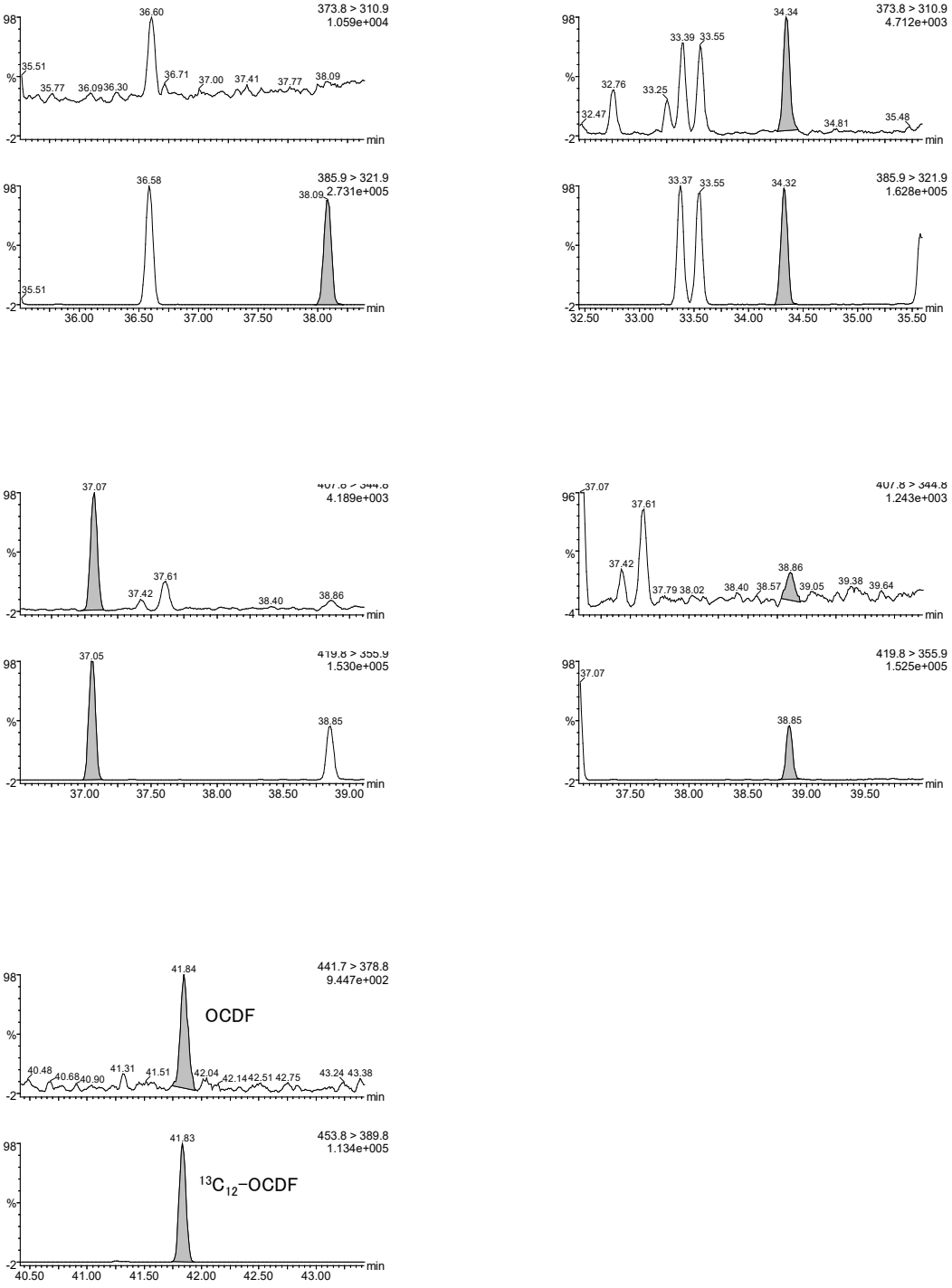


図 7 鶏卵の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

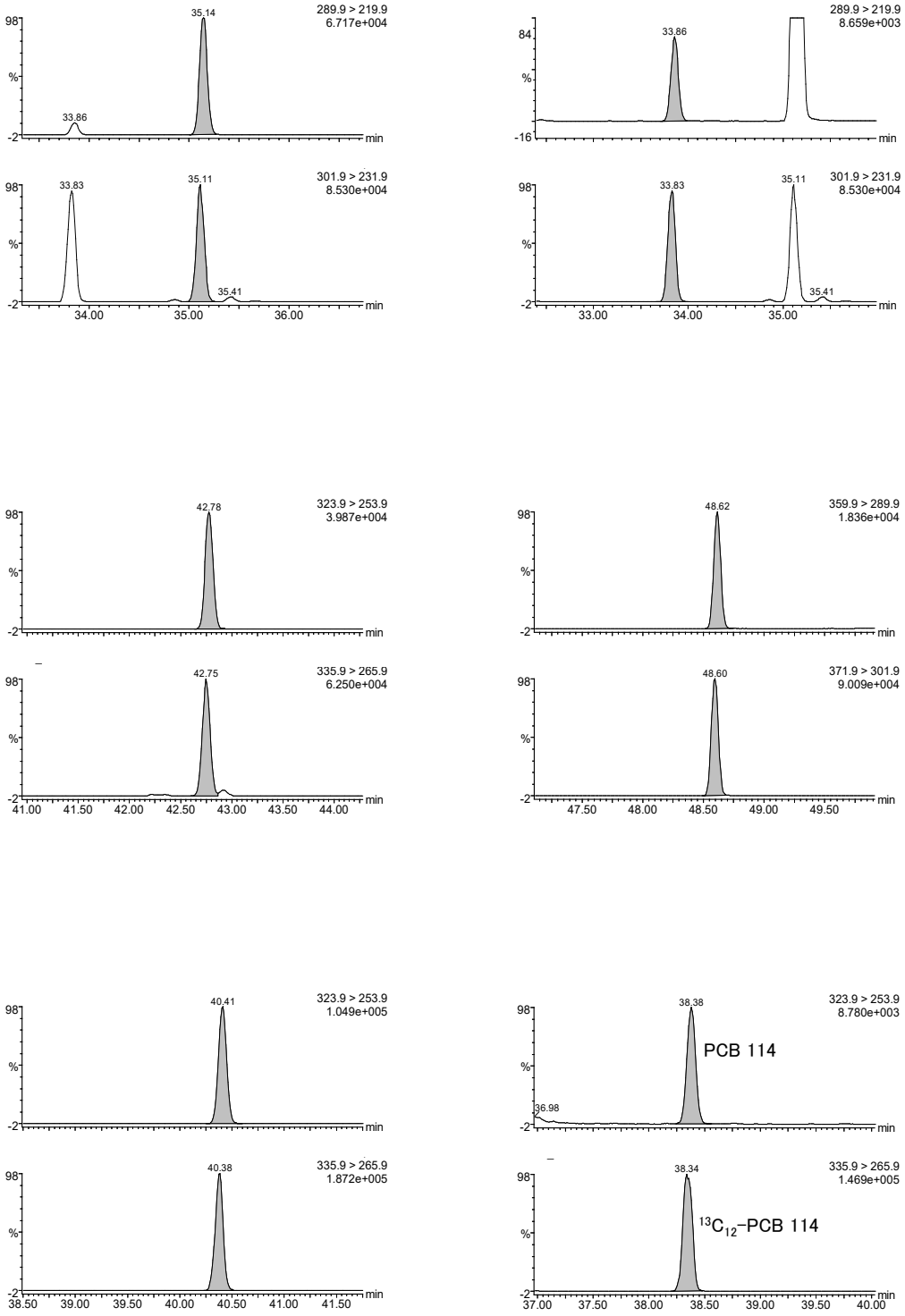


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

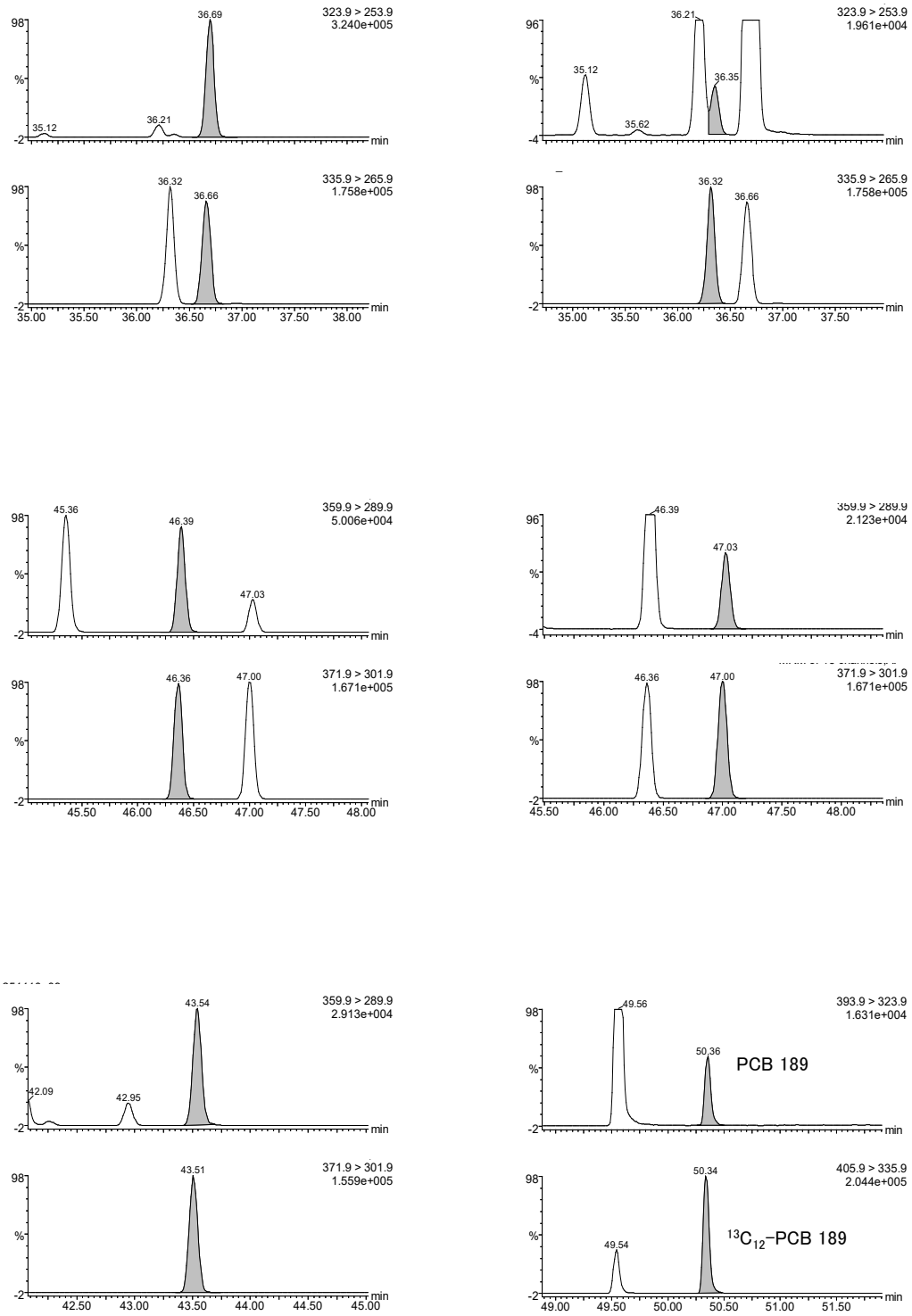


図 8 鶏卵の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

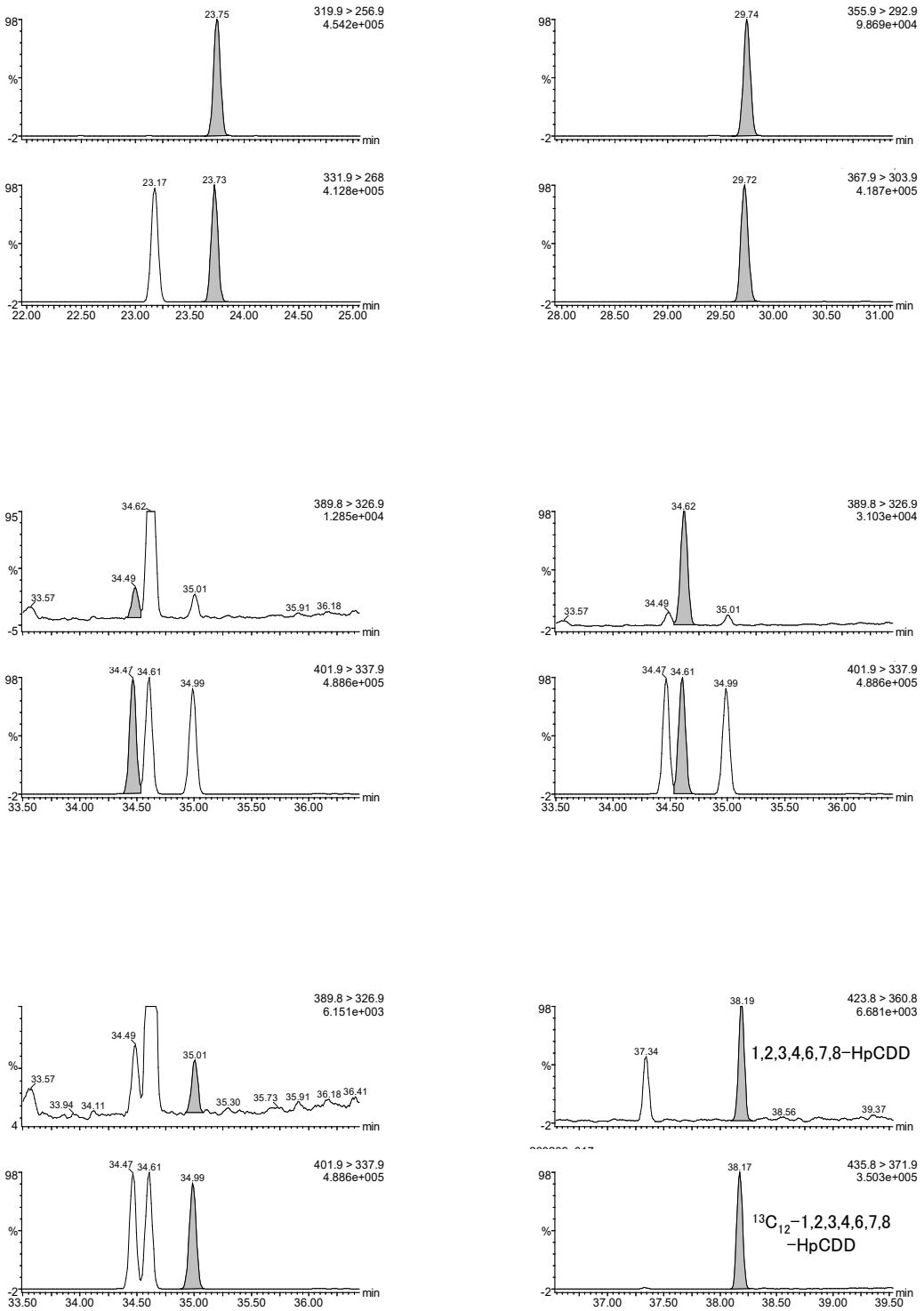


図 9 認証標準試料（WMF-01）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）

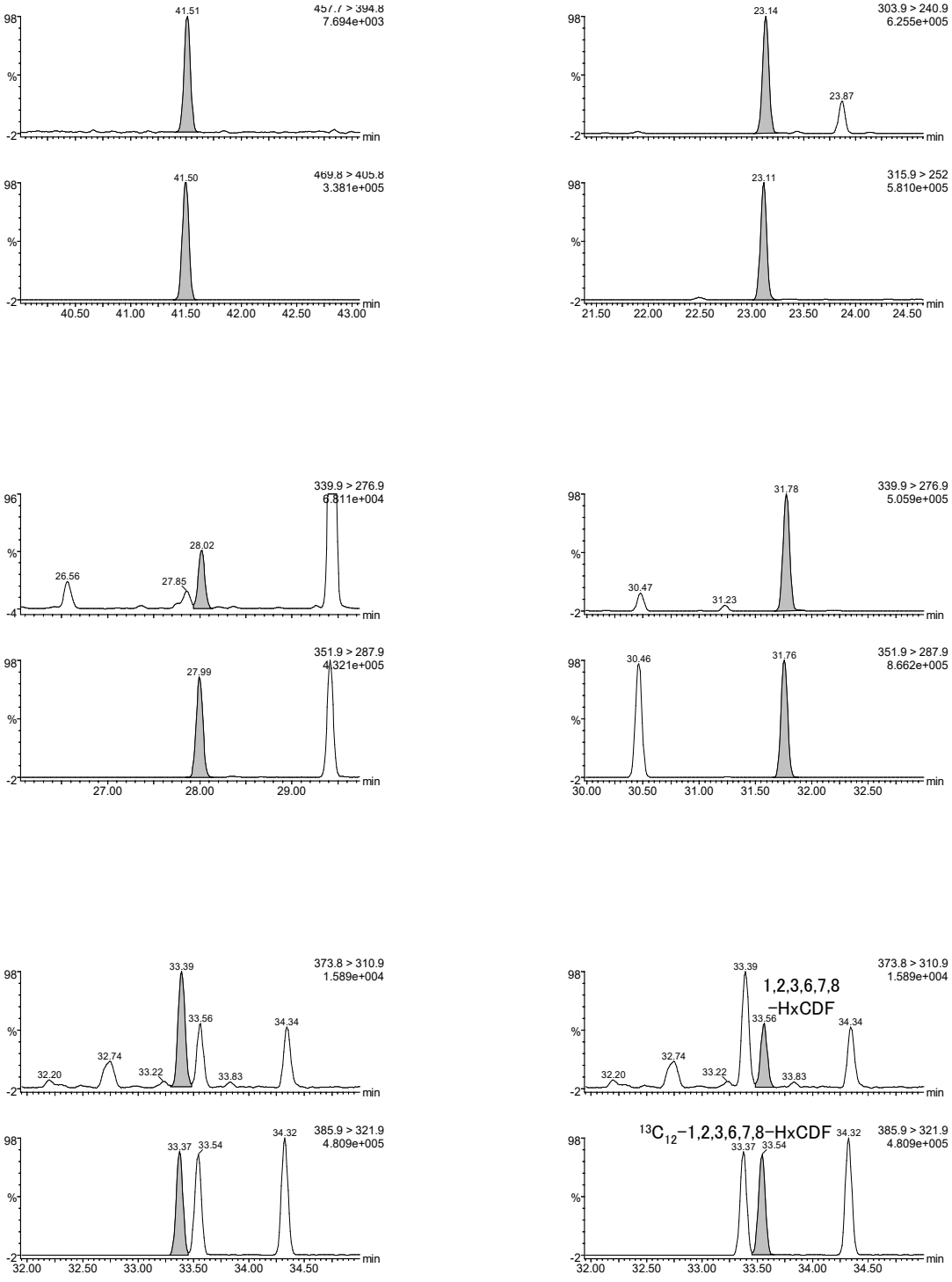


図 9 認証標準試料（WMF-01）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

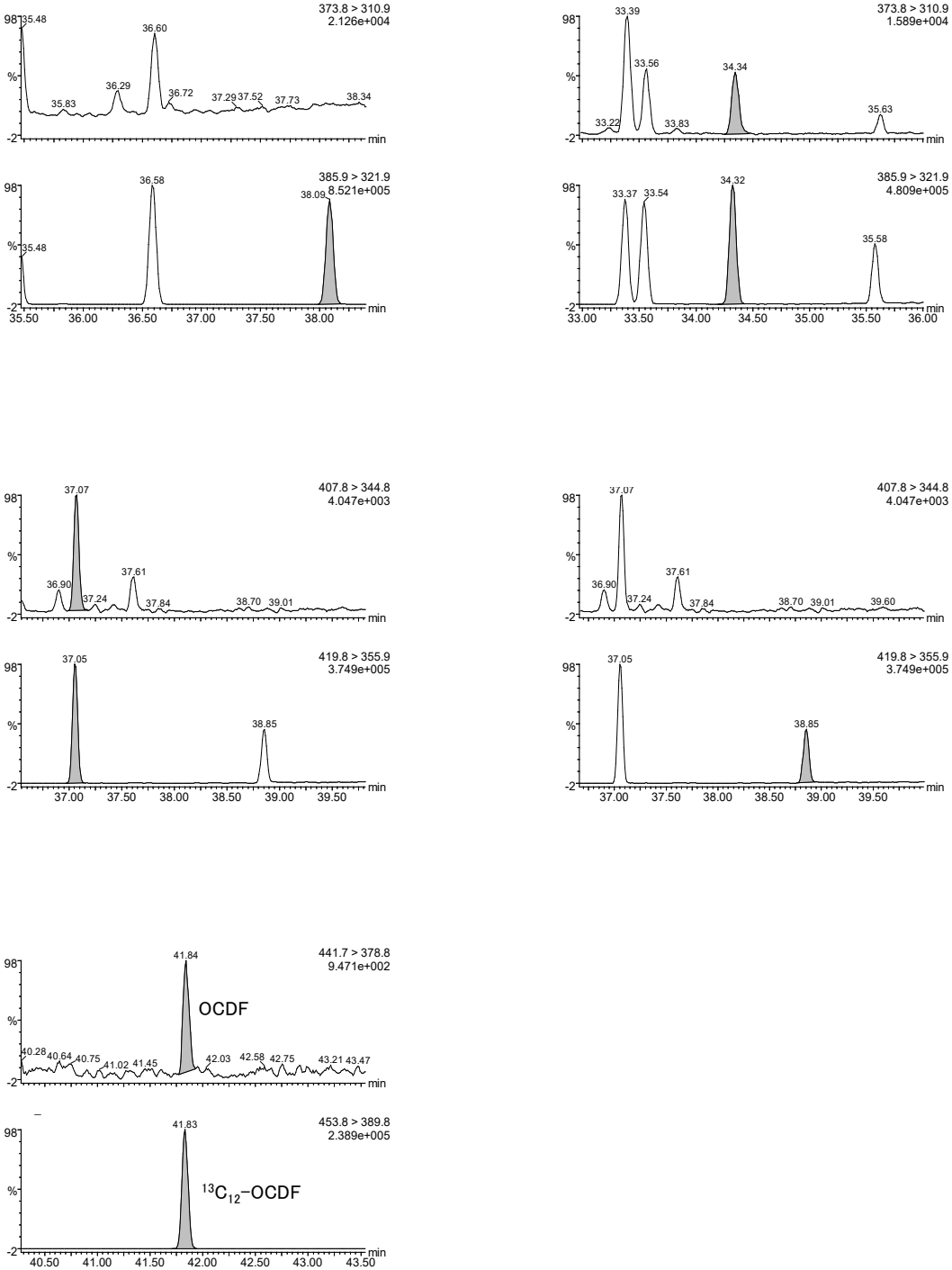


図 9 認証標準試料（WMF-01）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

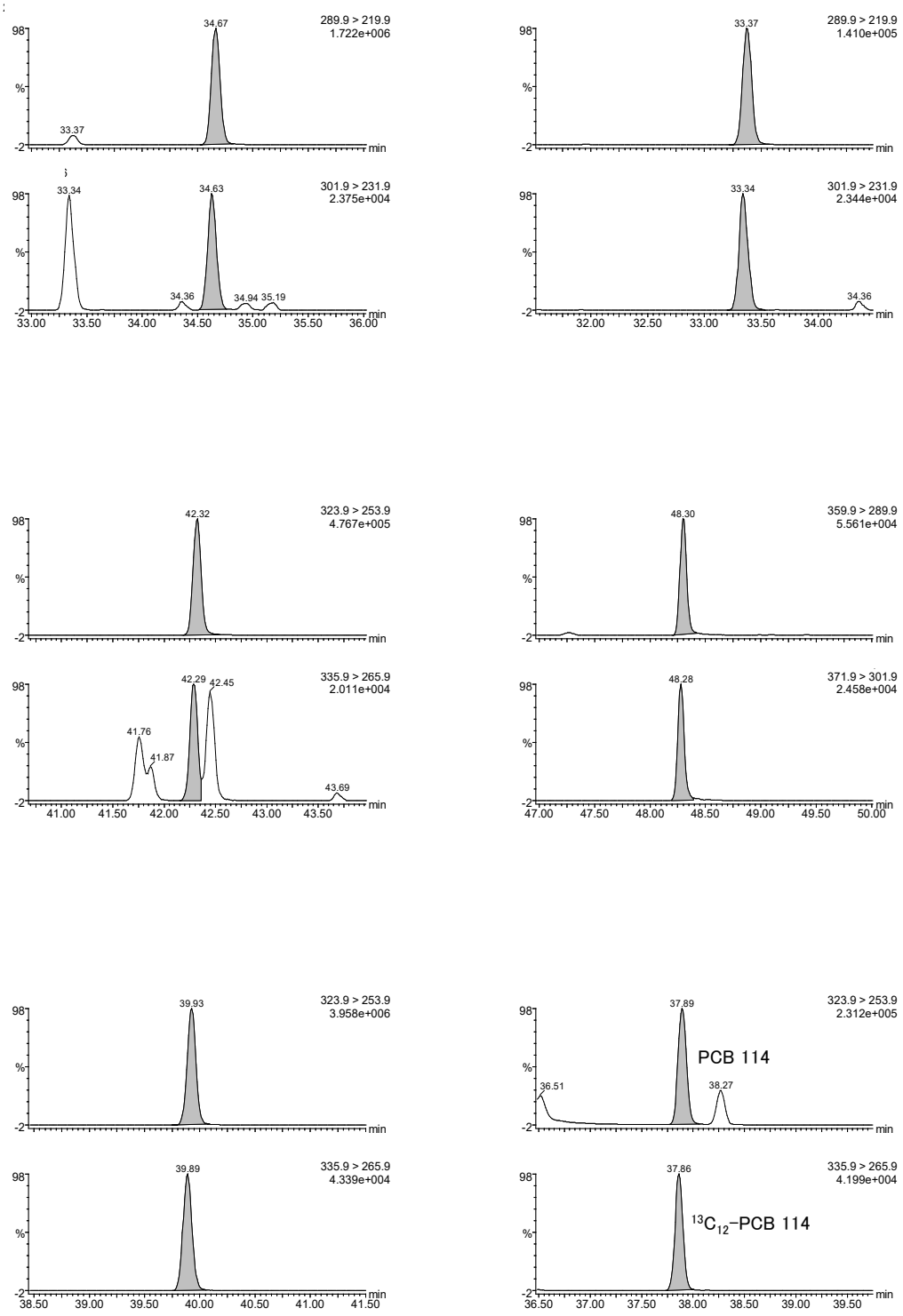
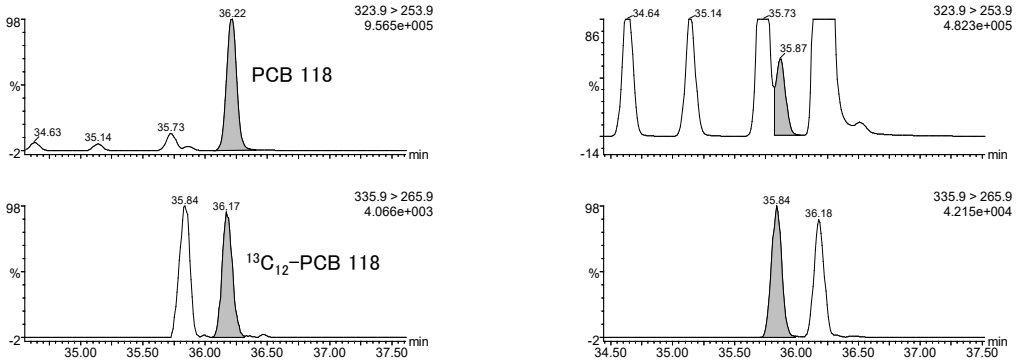
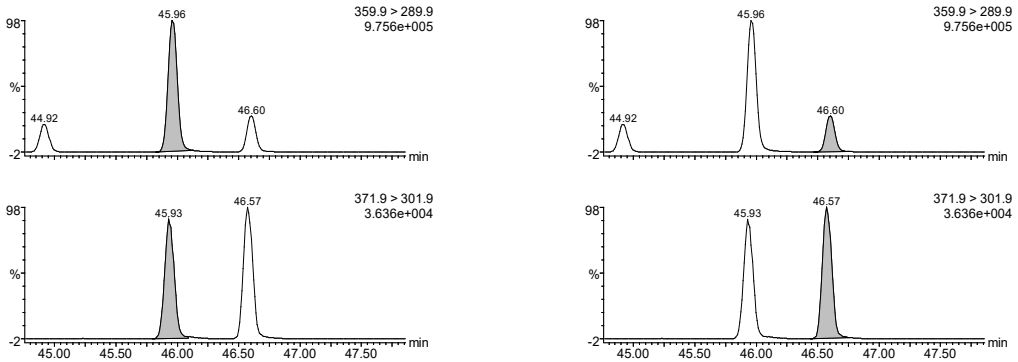


図 10 認証標準試料（WMF-01）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）



※試験溶液を10倍希釈した上で測定



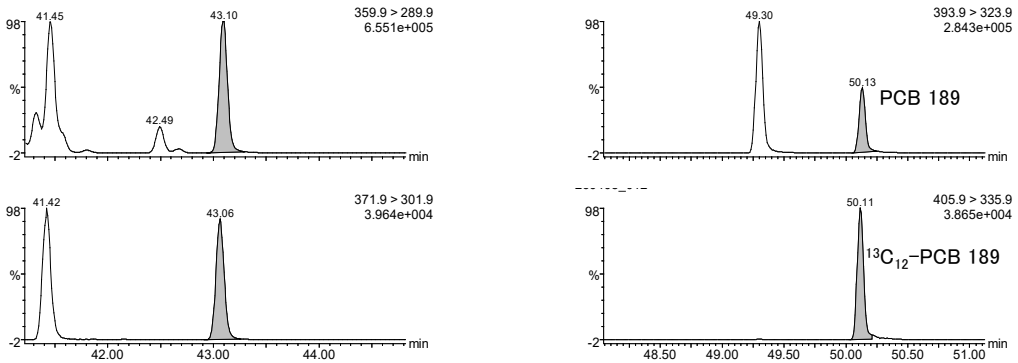


図 10 認証標準試料（WMF-01）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

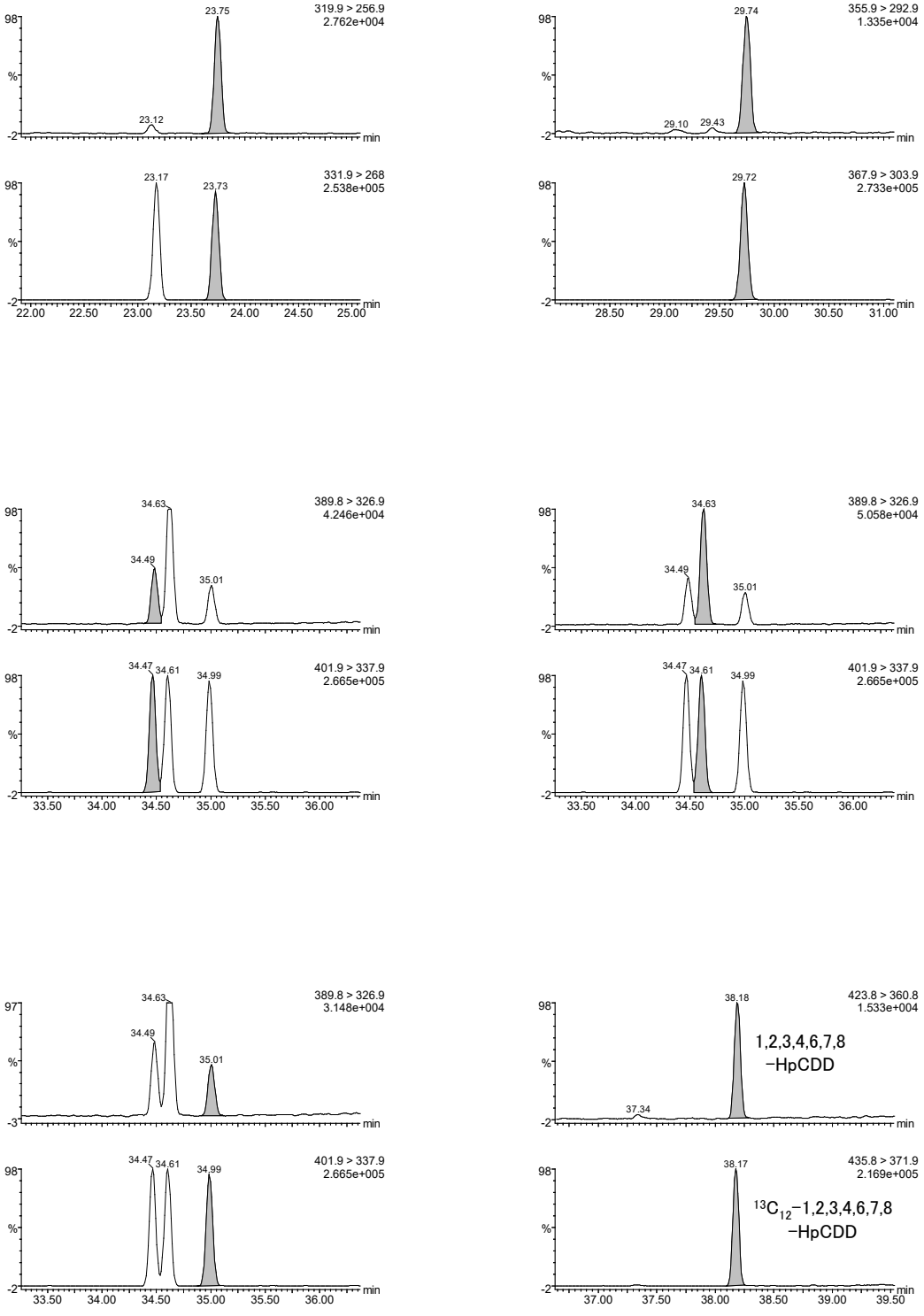


図 11 品質管理試料（T06149QC）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）

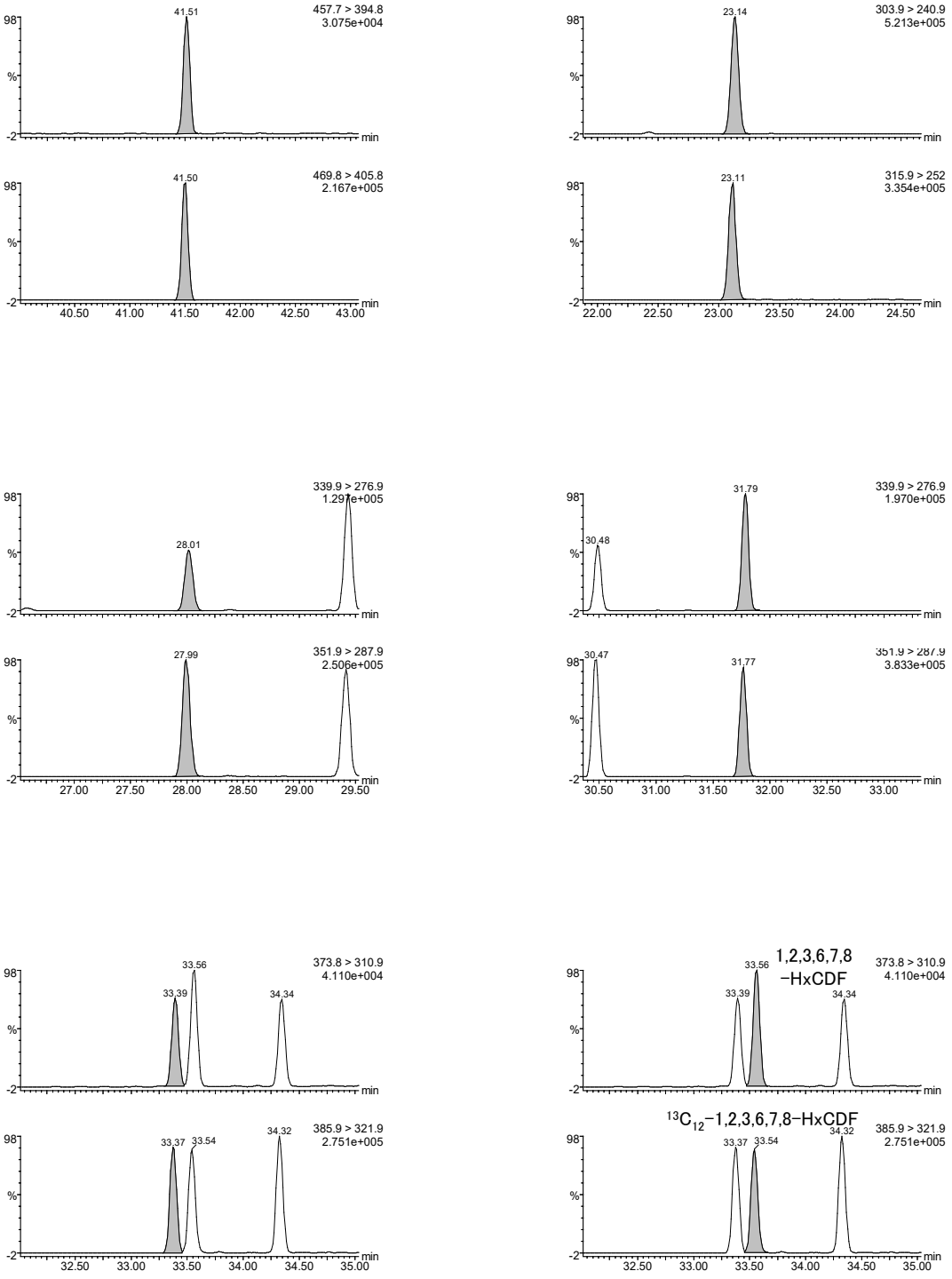


図 11 品質管理試料（T06149QC）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

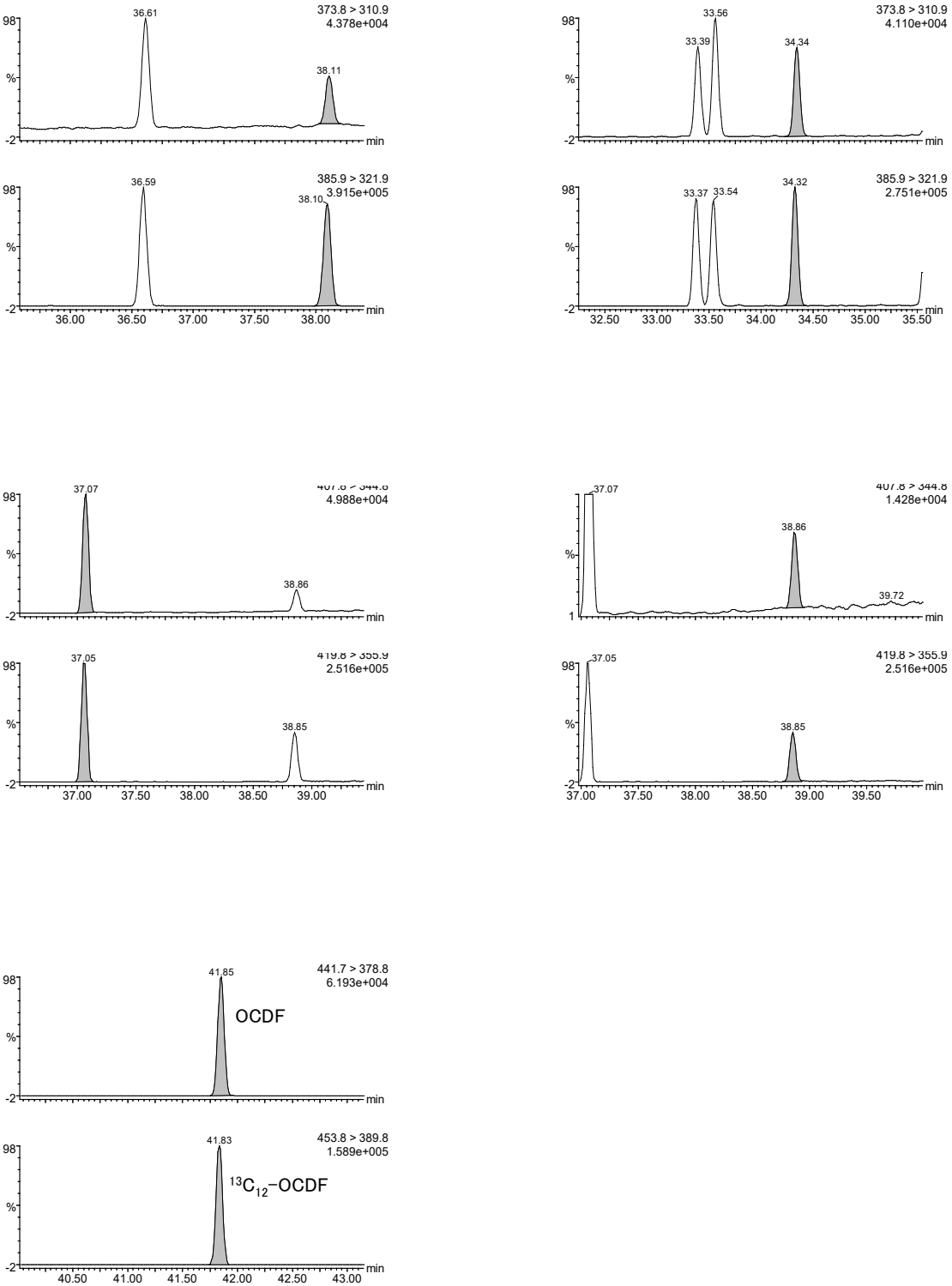


図 11 品質管理試料（T06149QC）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

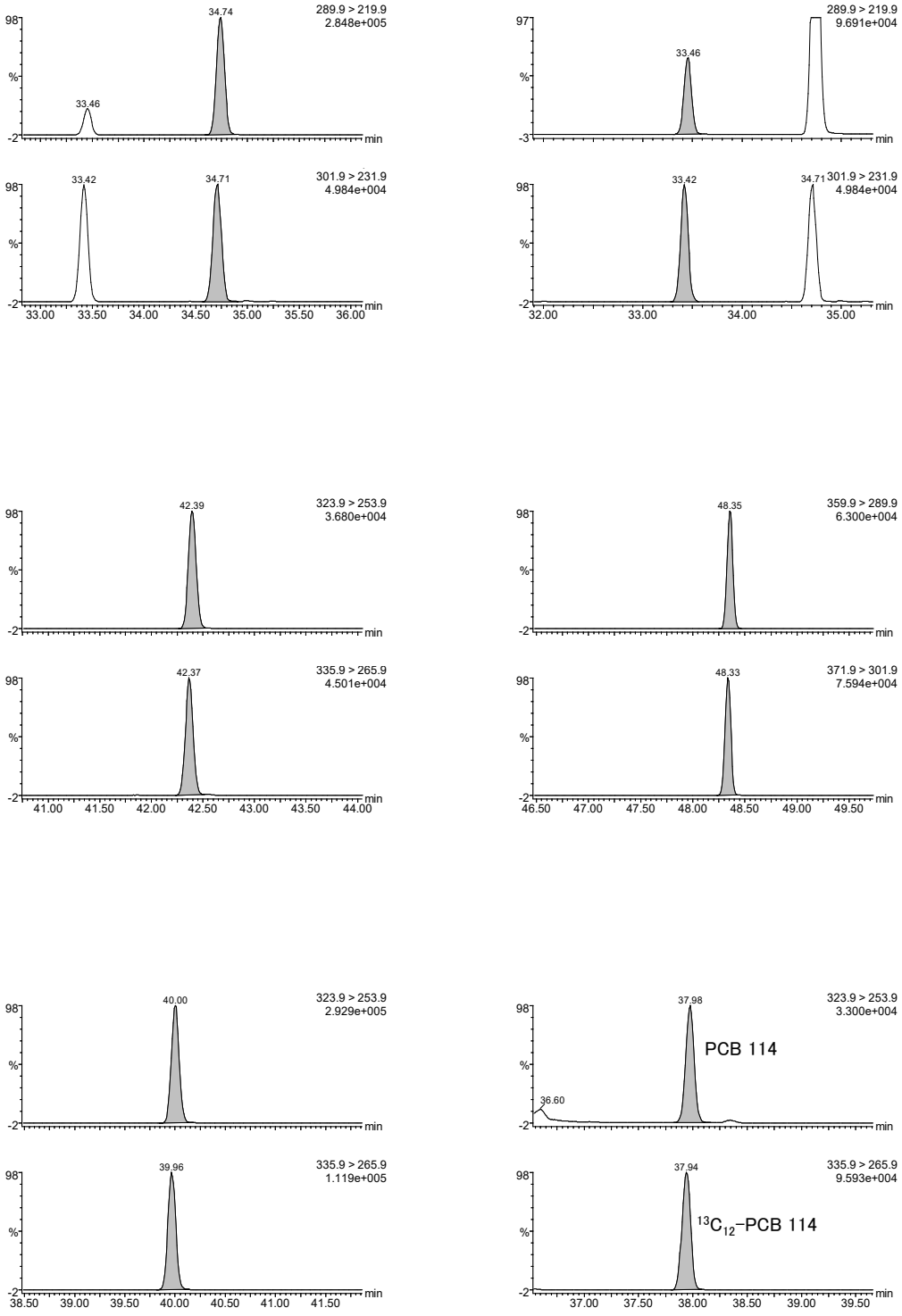


図 12 品質管理試料（T06149QC）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

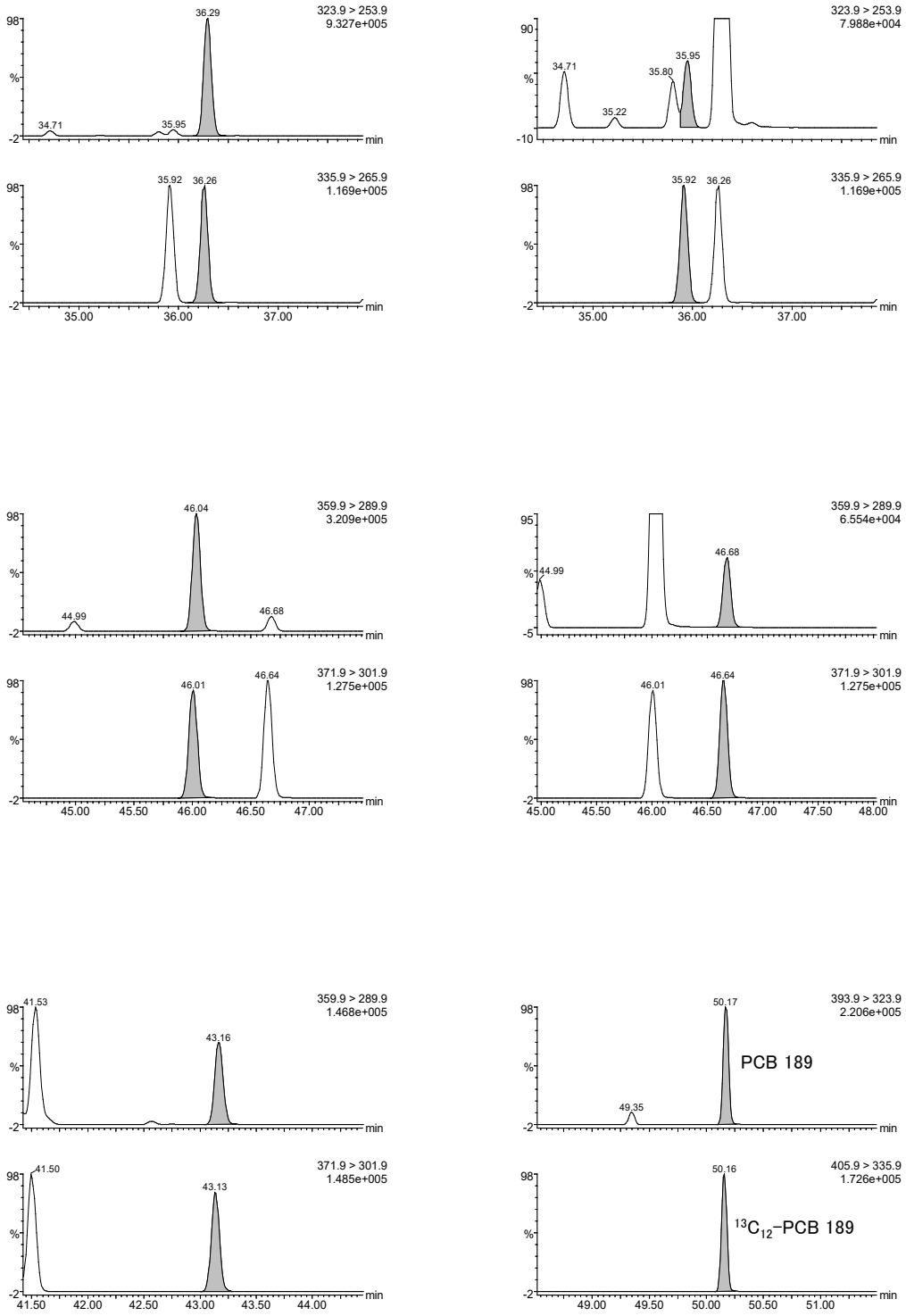


図 12 品質管理試料（T06149QC）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

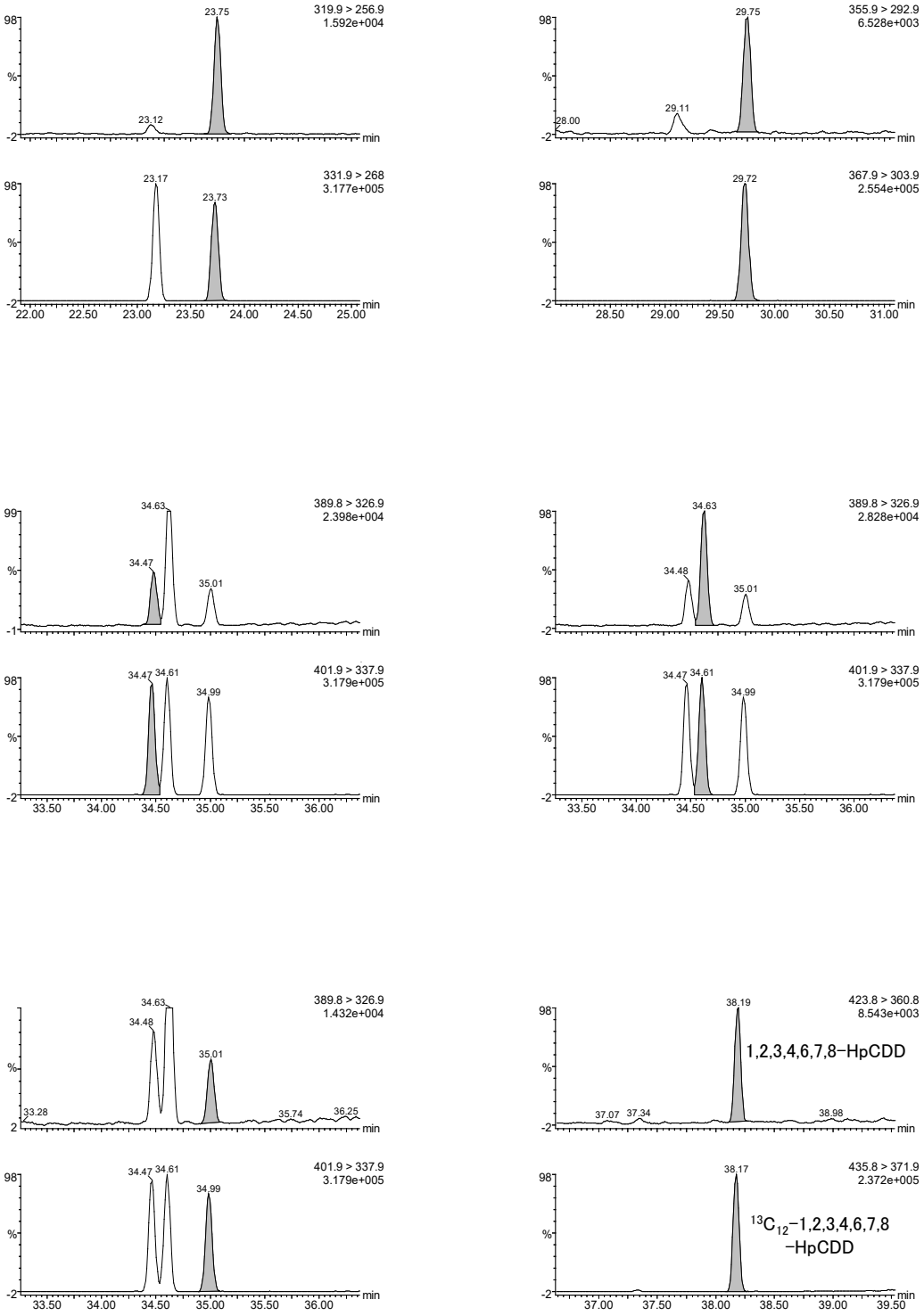


図 13 品質管理試料（T06133QC）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）

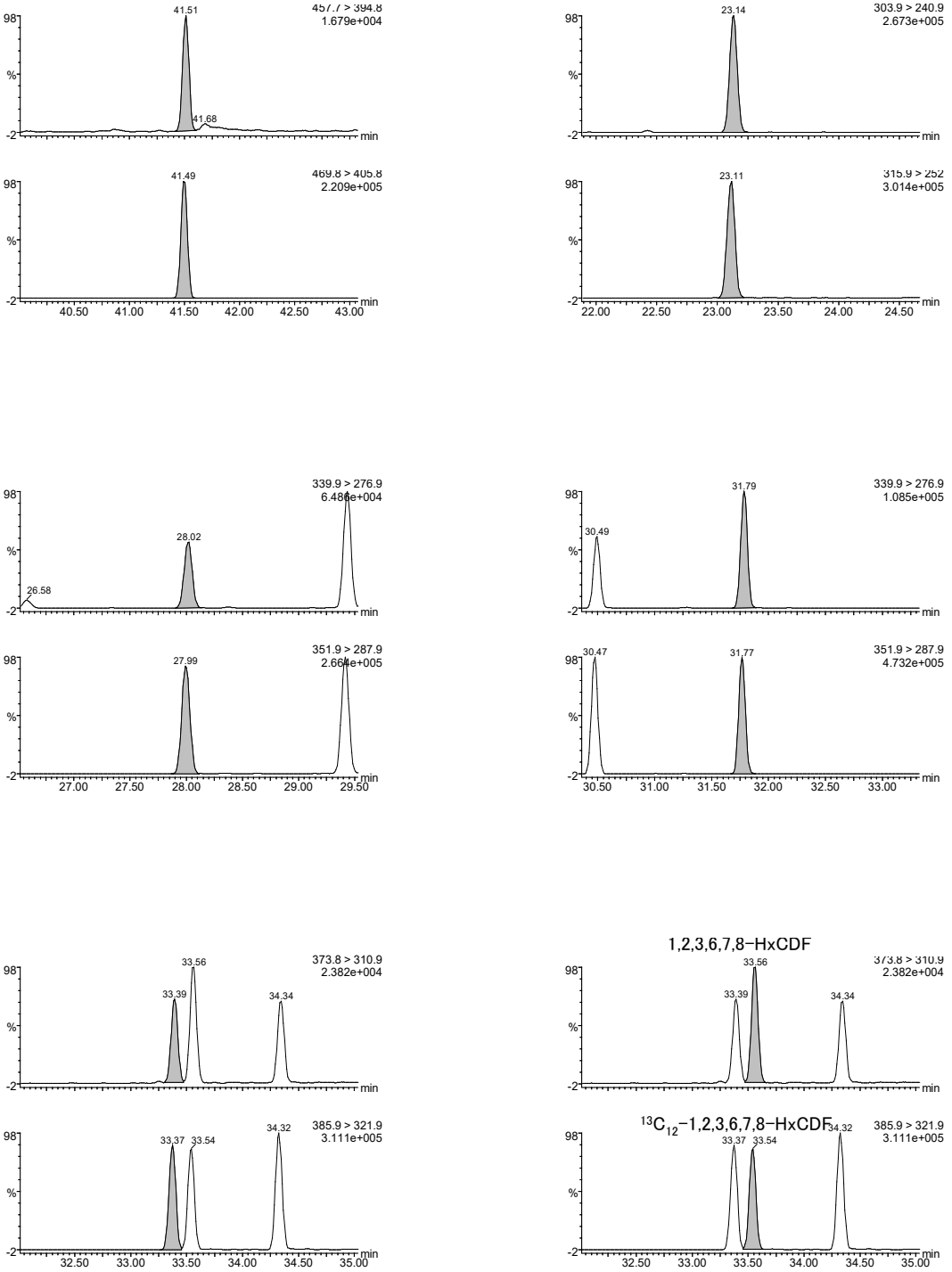


図 13 品質管理試料（T06133QC）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

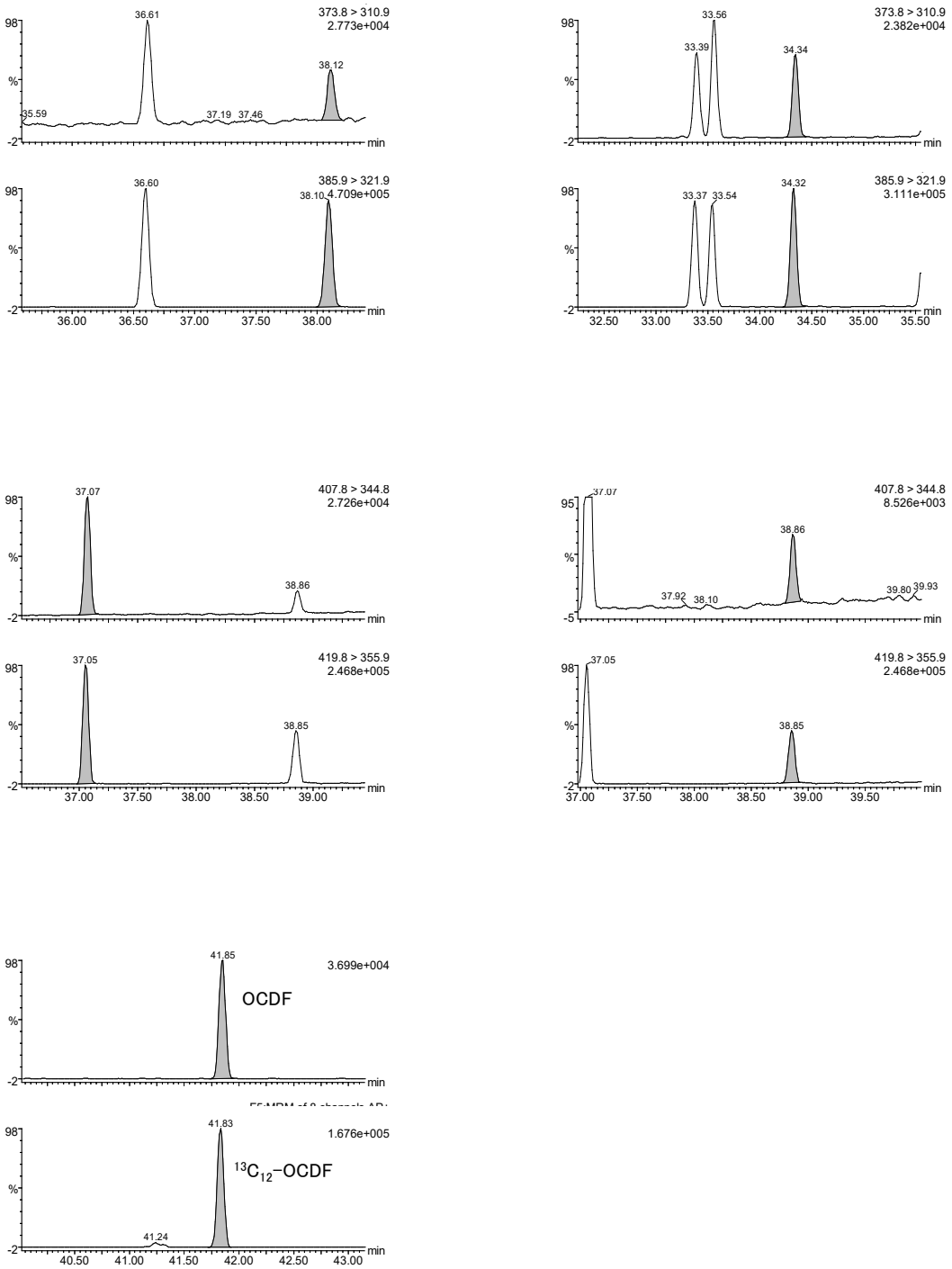


図 13 品質管理試料（T06133QC）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

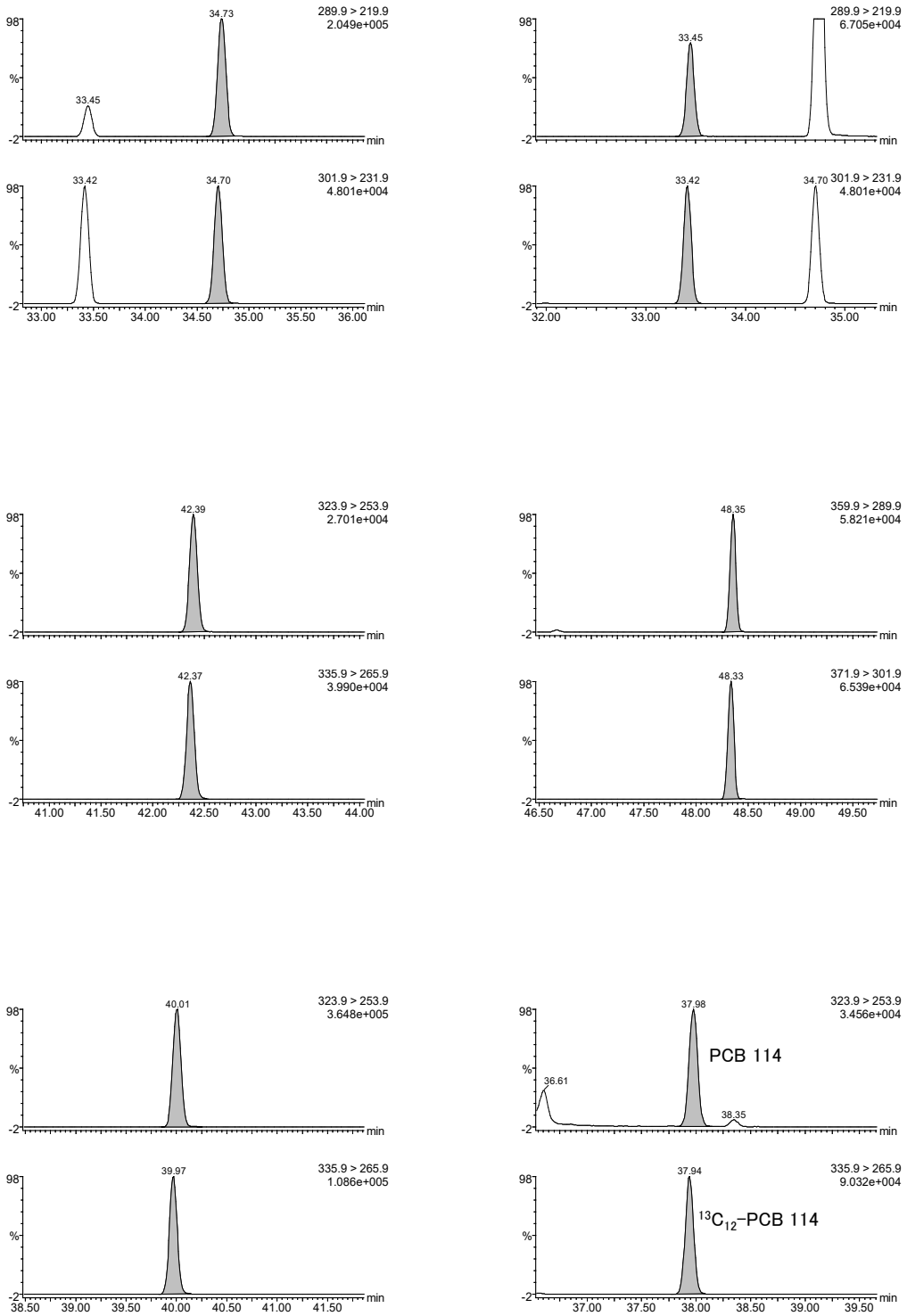


図 14 品質管理試料(T06133QC)の SRM クロマトグラム(Co-PCBs)

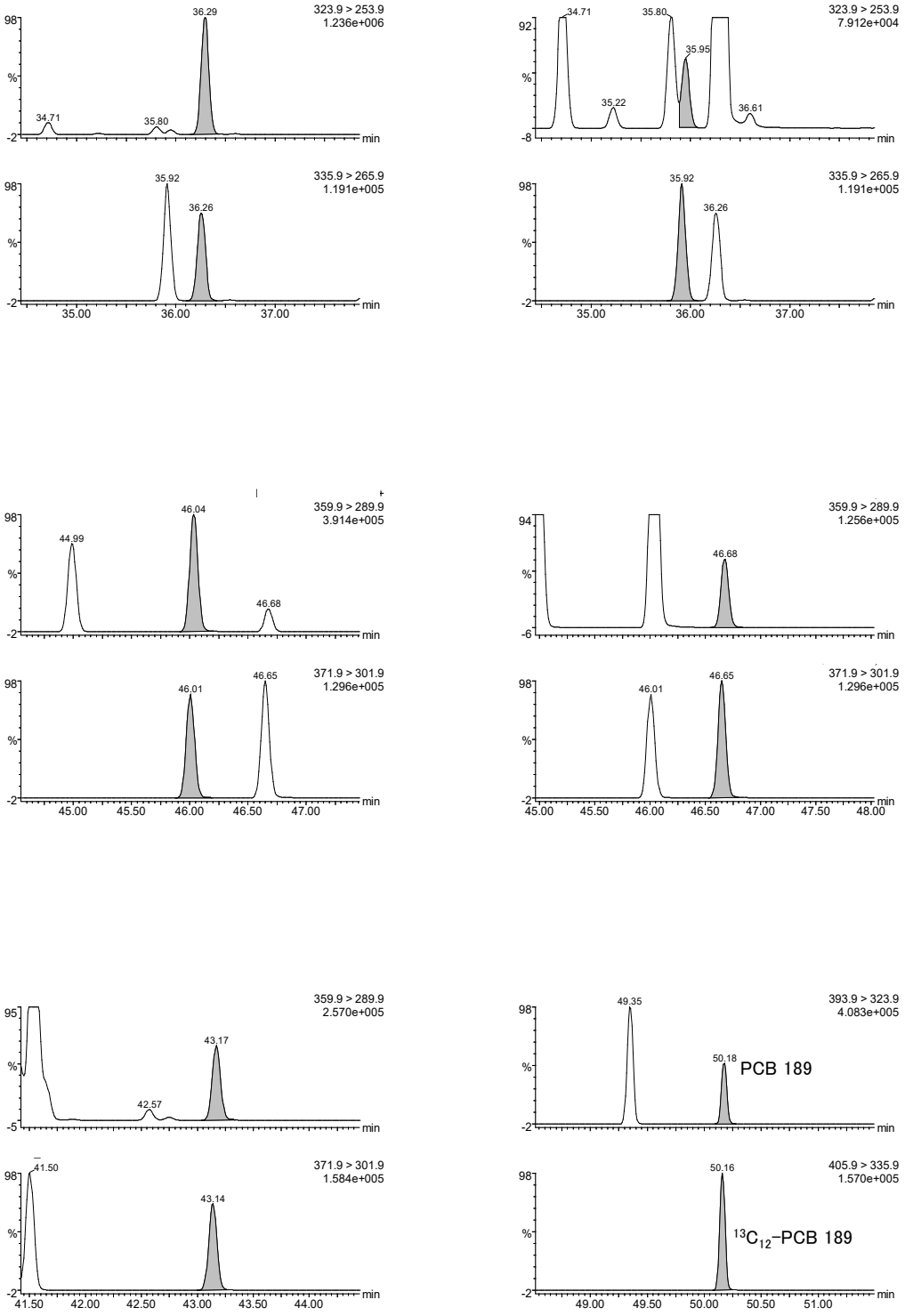


図 14 品質管理試料（T06133QC）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

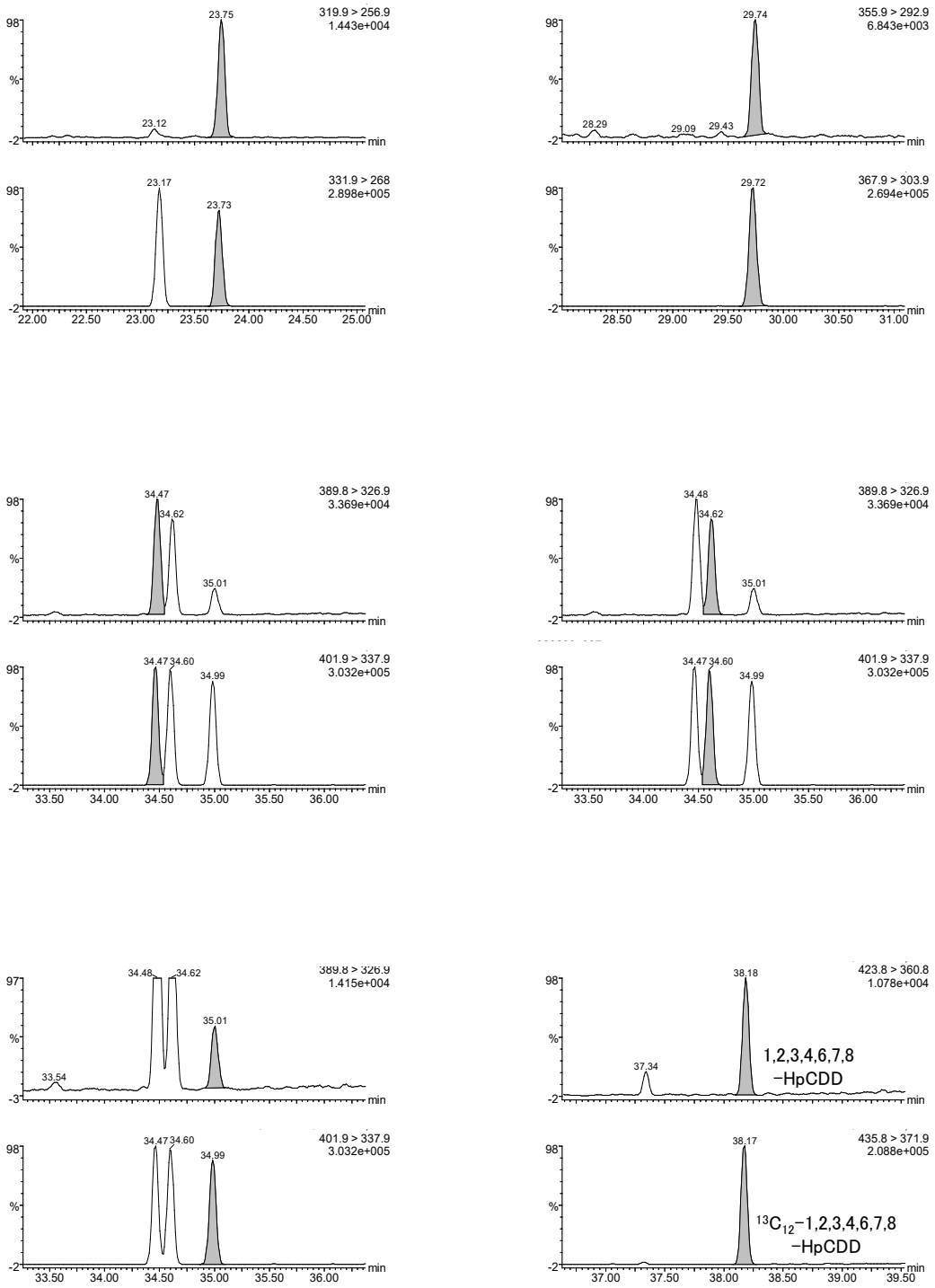


図 15 品質管理試料（T06148QC）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）

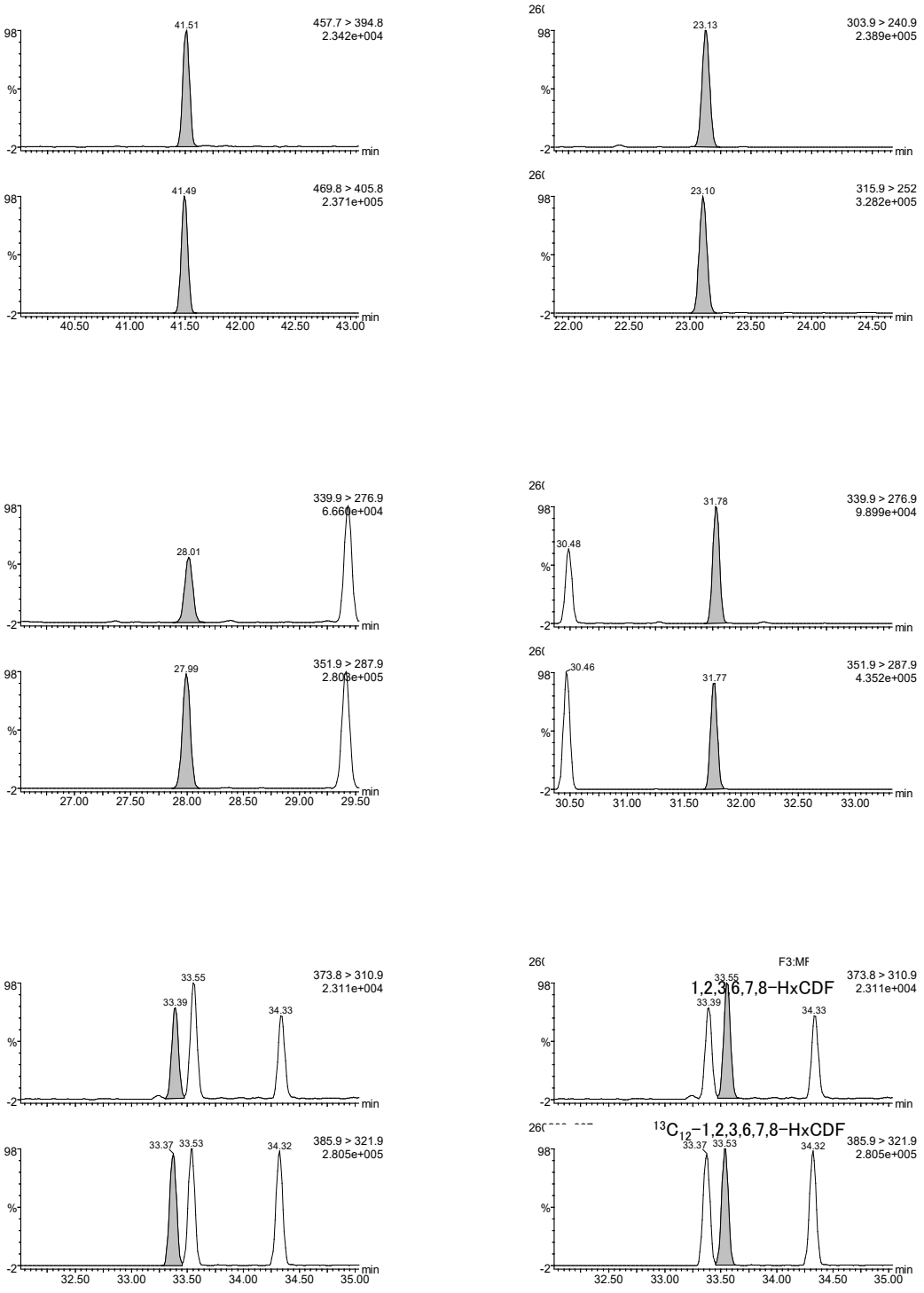


図 15 品質管理試料（T06148QC）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

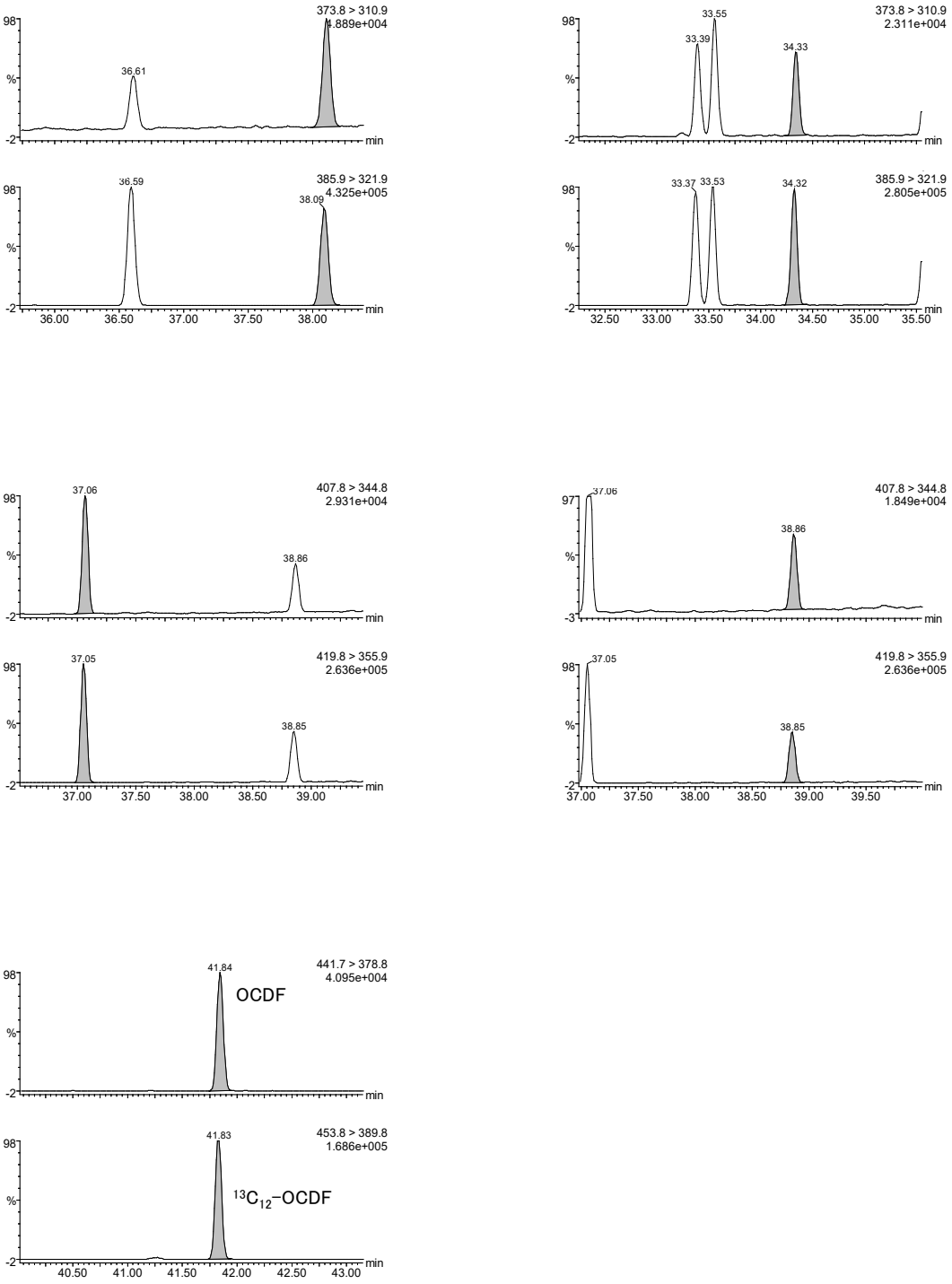


図 15 品質管理試料（T06148QC）の SRM クロマトグラム（PCDD/Fs）（つづき）

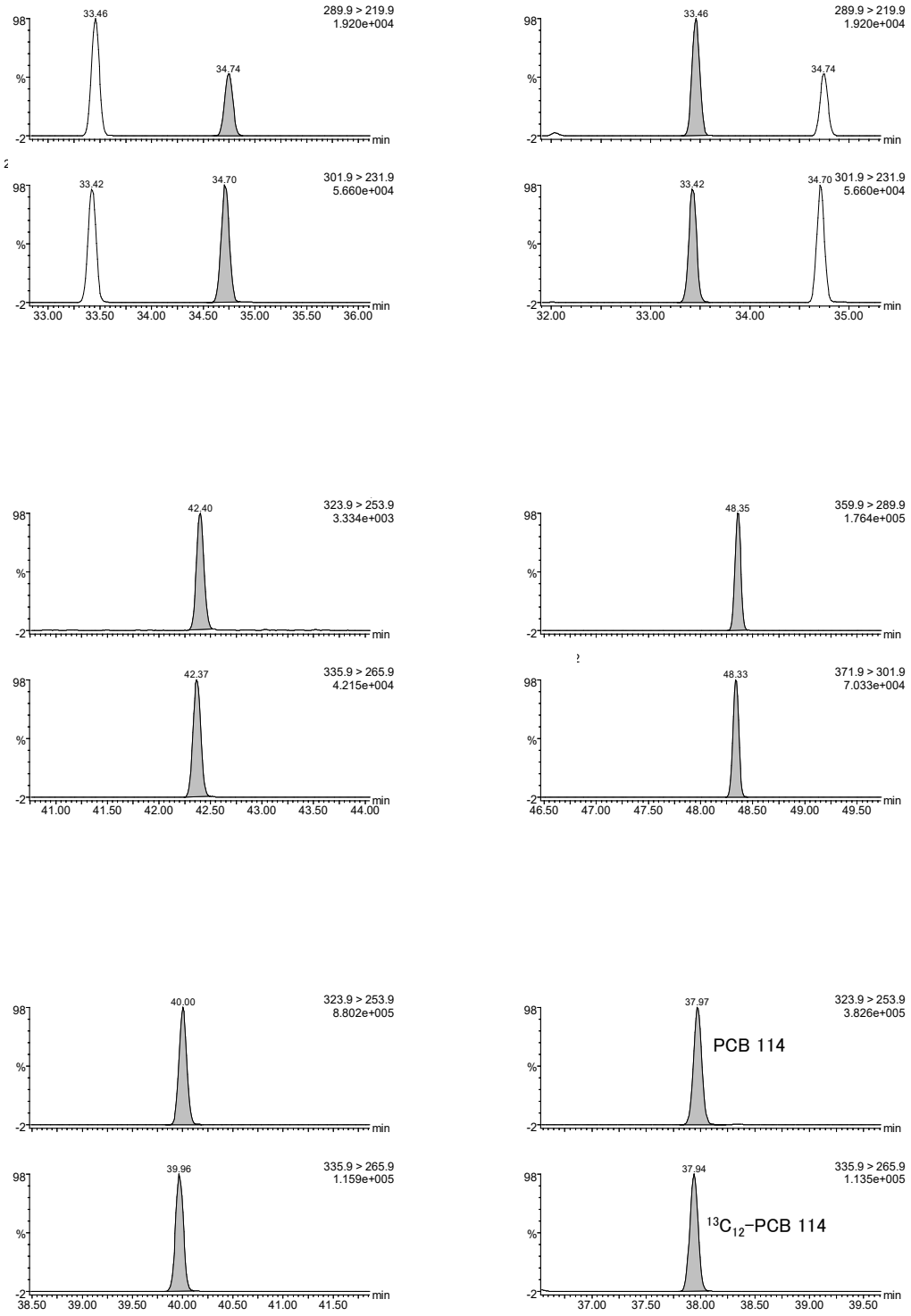


図 16 品質管理試料（T06148QC）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）

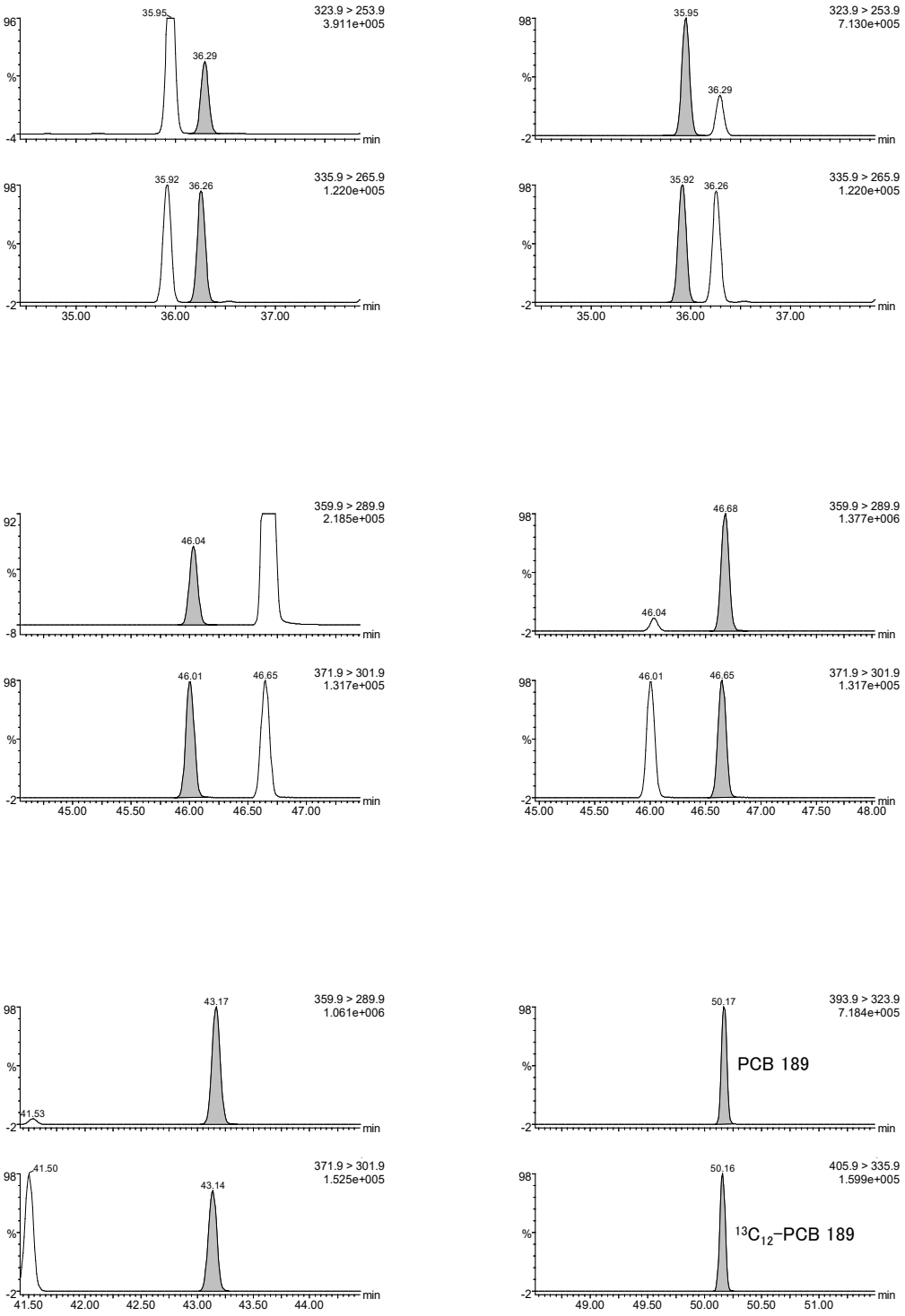


図 16 品質管理試料（T06148QC）の SRM クロマトグラム（Co-PCBs）（つづき）

Ⅱ．分担研究報告書

(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)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 7 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

(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)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）の一部は、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。昨年度の研究において、検討した分析法を用いて魚介類試料及びトータルダイエット（TD）試料（10群）中のBT含量を測定したところ、定量下限値（0.4 ng/g）未満のBTが含有されている可能性が示唆された。そこで、本年度は、より高感度分析が可能な分析法の開発を目的として、新たにGC-（APCI）MS/MS法によるBT分析法を検討し、LC-（ESI及びAPCI）MS/MS法との測定感度を比較した。併せて、ケイソウ土カラムを用いた前処理方法について検討した。試料はメタノールで抽出し、ケイソウ土カラム、5%含水シリカゲルカラム及びフロリジルミニカラムで精製した。標準溶液（0.01 μg/L）の*S/N* が最も良好で、かつ、分析対象種の多かったLC-（ESI）MS/MS法を採用した。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を用いた。検討した分析法における定量下限値の推定を行った結果、8種のBTの定量下限値は0.05 ng/gと推定された。検討した分析法の性能を評価するため、TD試料（1群～13群）を対象とした添加回収試験を行った結果、4群を除く食品群において、7種のBTで良好な真度（70%～116%）及び併行精度（<14.4%）を示した。また、添加回収試験にて良好な結果が得られたBTについて、TD試料中の含量を分析したところ、7群試料においてUV-328（0.54 ng/g）、10群試料においてUV-327（0.05 ng/g）が検出された。その他、すべて定量下限値未満であった。

研究協力者

埼玉県衛生研究所

久保　菜穂子、今井　浩一

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。

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-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、化審法の第一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、化審法上は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 PPARα 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 汚染実態や食品中の BT 含有量については報告が少ない[14]～[19]。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、トータルダイエット（TD）試料を対象とした BT 分析法について検討する。令和 4 年度から令和 6 年度の研究において、エレクトロスプレーイオン化（ESI）法を用いた LC-MS/MS（LC-（ESI）MS/MS）法による食品中の BT 分析法を検討してきた[20,21]。昨年度の報告では、魚介類試料や TD 試料（10 群）中の BT 含量を検討した。その結果、定量下限値未満の BT が含有されている可能性が示唆されており、摂取量調査を実施するにあたり、より高感度な分析法を開発が望まれた。近年、BT 分析においては、大気圧化学イオン化（APCI）法による分析が報告されている[22,23]。APCI 法はフラグメンテーションが起こりにくいため、感度や選択性の高い測定が可能であり、低極性の化合物の測定に適していると考えられている。そこで、本年度は APCI 法を用いた GC-MS/MS（GC-（APCI）MS/MS）法及び LC-MS/MS（LC-(APCI)MS/MS）法による BT 分析の測定条件を検討し、LC-（ESI）MS/MS 法との測定感度の比較を行った。併せて、前処理法についてもケイソウ土カラムによる精製について検討した。さらに、測定感度が最も良好であった LC-（ESI）MS/MS 法を用いて TD 試料を対象とした添加回収試験を実施し、分析法の性能を評価した。

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-エノアート（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)
ケイソウ土カラム:InertSep K-solute Plus 10 mL(GL Sciences 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、0.005 µg/L～1 µg/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 µg/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 µg/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、0.5 μg/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 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。

4. 試料

TD 試料は、令和 7 年度において、埼玉県内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、13 食品群ごとに混合均一化したものを試料とした。13 食品群の内訳は、次のとおりである。

1 群:米類
2 群:米以外の穀類・いも類・種実類
3 群:砂糖類・菓子類
4 群:油脂類
5 群:豆類
6 群:果実類
7 群:緑黄色野菜類
8 群:その他の野菜類・きのこ類・海藻類
9 群:嗜好飲料類
10 群:魚介類
11 群:肉類・卵類
12 群:乳類
13 群:調味料類

魚介類試料(アジ及びカキ)は、関東地区のスーパーマーケットで購入した。アジは筋肉部を採取し、カキは軟組織を採取して細切均一化した。

5. 機器

LC:ACQUITY Premier(Waters 製)
GC:8890(Agilent Technologies 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 μm)
移動相流速:0.2 mL/min
注入量:5 μL
カラム温度:40℃
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(ESI 法)

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℃
脱溶媒温度:500℃
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→120[30 V/15 eV]
m/z 226→107[30 V/20 eV]
UV-PS:*m/z* 268→212[40 V/20 eV]
m/z 268→57 [40 V/25 eV]
UV-9:*m/z* 266→119[40 V/20 eV]
m/z 266→91 [40 V/30 eV]
UV-090:*m/z* 324→238[30 V/15 eV]
m/z 324→91 [30 V/30 eV]
UV-234:*m/z* 448→119[40 V/30 eV]
m/z 448→370[40 V/20 eV]

UV-320:*m/z* 324→268[30 V/20 eV]
m/z 324→212[30 V/25 eV]
UV-326:*m/z* 316→260[30 V/20 eV]
m/z 318→262[30 V/20 eV]
UV-327:*m/z* 358→302[40 V/20 eV]
m/z 360→304[40 V/20 eV]
UV-328:*m/z* 352→282[30 V/20 eV]
m/z 352→71 [30 V/25 eV]
UV-329:*m/z* 324→212[30 V/25 eV]
m/z 324→57 [30 V/25 eV]
UV-350:*m/z* 324→268[30 V/20 eV]
m/z 324→212[30 V/25 eV]
UV-360:*m/z* 659→336[30 V/20 eV]
m/z 659→224[30 V/30 eV]
UV-928:*m/z* 442→364[30 V/25 eV]
m/z 442→252[30 V/30 eV]
UV-P d_3:*m/z* 229→120[30 V/15 eV]
m/z 229→110[30 V/20 eV]
UV-PS d_4:*m/z* 272→216[40 V/20 eV]
m/z 272→57 [40 V/25 eV]
UV-234 d_4:*m/z* 452→374[40 V/20 eV]
m/z 452→119[40 V/30 eV]
UV-320 d_4:*m/z* 328→272[30 V/20 eV]
m/z 328→216[30 V/25 eV]
UV-326 d_3:*m/z* 319→263[30 V/20 eV]
m/z 321→265[30 V/20 eV]
UV-327 d_3:*m/z* 361→305[40 V/20 eV]
m/z 363→307[40 V/20 eV]
UV-328 d_4:*m/z* 356→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]

3) MS 条件(APCI 法)

測定モード:選択反応モニタリング(SRM)
イオン化法:APCI(+)
コロナ電圧:0.3 kV
イオン源温度:150℃
APCI プローブ温度:480℃
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:ESI 法と同一

7. GC-MS/MS 測定

1) GC 条件

① UV-360 以外の化合物
カラム:DB-5MS(Agilent Technologies 製)
(内径 0.25 mm、長さ 30 m、 膜厚 0.25 μm)
キャリアーガス:窒素ガス(0.6615 mL/min)
注入量:1 μL
注入方式:スプリットレス
注入口温度:280℃
昇温条件:80℃(0.5 分保持)-45℃/分-300℃-35℃/分-320℃(15 分保持)
測定時間:21 分
② UV-360
カラム:DB-5MS (Agilent Technologies 製)
(内径 0.25 mm、長さ 30 m、 膜厚 0.25 μm)
キャリアーガス:窒素ガス(0.6615 mL/min)
注入量:1 μL
注入方式:スプリットレス
注入口温度:280℃
昇温条件:80℃(0.5 分保持)-30℃/分-310℃(120 分保持)
測定時間:128 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:APCI(+)
コロナ電流:1 μA
MS 導入部温度:300℃
イオン源温度:150℃
定量イオン及び定性イオン:
UV-P:*m/z* 225→154[30 V/20 eV]

m/z 225→196[30 V/18 eV]
UV-PS: *m/z* 267→252[10 V/16 eV]
m/z 267→133[10 V/26 eV]
UV-9: *m/z* 265→250[10 V/30 eV]
m/z 265→131[10 V/14 eV]
UV-090: *m/z* 237→180[20 V/20 eV]
m/z 237→78 [20 V/28 eV]
UV-234: *m/z* 447→432[30 V/14 eV]
m/z 447→342[39 V/14 eV]
UV-320: *m/z* 323→308[20 V/20 eV]
m/z 323→252[20 V/28 eV]
UV-326: *m/z* 315→300[30 V/16 eV]
m/z 315→272[30 V/20 eV]
UV-327: *m/z* 357→342[20 V/20 eV]
m/z 357→286[20 V/28 eV]
UV-328: *m/z* 351→322[10 V/16 eV]
m/z 351→252[10 V/28 eV]
UV-329: *m/z* 323→252[5 V/14 eV]
m/z 323→133[5 V/28 eV]
UV-350: *m/z* 324→308[30 V/16 eV]
m/z 324→294[30 V/16 eV]
UV-360: *m/z* 658→264[30 V/20 eV]
m/z 658→587[30 V/30 eV]
UV-928: *m/z* 441→370[10 V/18 eV]
m/z 441→292[10 V/34 eV]
UV-P d_3: *m/z* 228→154[30 V/20 eV]
m/z 228→199[30 V/18 eV]
UV-PS d_4: *m/z* 271→256[10 V/16 eV]
m/z 271→133[10 V/26 eV]
UV-234 d_4: *m/z* 451→436[30 V/14 eV]
m/z 451→346[30 V/14 eV]
UV-320 d_4: *m/z* 327→312[20 V/20 eV]
m/z 327→256[20 V/28 eV]
UV-326 d_3: *m/z* 318→303[30 V/16 eV]
m/z 318→275[30 V/20 eV]
UV-327 d_3: *m/z* 360→345[20 V/20 eV]
m/z 360→289[20 V/28 eV]
UV-328 d_4: *m/z* 355→328[10 V/16 eV]
m/z 355→256[10 V/28 eV]
UV-329 d_4: *m/z* 327→256[5 V/14 eV]
m/z 327→228[5 V/28 eV]
UV-350 d_4: *m/z* 328→312[30 V/16 eV]
m/z 328→298[30 V/16 eV]
UV-928 d_4: *m/z* 445→374[10 V/18 eV]
m/z 445→296[10 V/34 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]

8. 検量線及び定量

検量線用混合標準系列は BT の濃度が 0.005 μg/L、0.01 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(LC-MS/MS 法)または *n*-ヘキサン(GC-(APCI)MS/MS 法)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。

9. 試験溶液の調製

1) 抽出及び脱脂

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 2 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 7 mL を加えて溶解した後、ケイソウ土カラムに負荷後、5 分間吸引乾燥した。アセトニトリル 100 mL で溶出し、溶出液に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℃以下で濃縮し、溶媒を除去した。これに*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

コック付きのガラスカラム(内径 10 mm、長さ300 mm)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 40mL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(LC-(ESI)MS/MS 法及びLC-(APCI)MS/MS 法)または*n*-ヘキサン(GC-(APCI)MS/MS法)で正確に5 mLにして試験溶液とした。

10. 定量下限値の推定

本研究においては、0.05 ng/g を定量下限値の目標値と設定した。操作ブランク試料を B. 研究方法の 9. 試験溶液の調製(図 2-1)に従って、5 併行で調製した。操作ブランク試料において、同一保持時間に定量下限値の目標値に相当する標準溶液のピーク強度の 1/10 以上のピークが認められた BT については、操作ブランク試料の定量値の平均値及び標準偏差を求め、標準偏差の 10 倍を定量下限値として求めた。これが目標値よりも小さい値の場合は目標値を定量下限値として設定した。

11. 添加回収試験

添加回収試験用混合標準溶液を試料に添加し、B. 研究方法の 9. 試験溶液の調製(図 2-1)に従って添加回収試験を実施した。BTの添加濃度は、定量下限値の目標値濃度(0.05 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標準溶液のレスポンス比により算出した。また、操作ブランク試料及び未添加試料から 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。

12. 試料中の BT 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同一の TD 試料を用いて、試料中のBT含量を求めた。安定同位体標識化合物の回収率は、試料試験溶液と添加相当濃度の標準溶液のレスポンス比により算出した。また、操作ブランク試料からBTが定量された場合は、TD 試料から定量値を差し引いて定量値を求めた。

C. 研究結果及び考察

1. GC-(APCI)MS/MS 測定条件の検討

GC-(APCI)MS/MS では、キャリアーガスとして窒素ガスを用いた高感度分析が可能である[25]ため、キャリアーガスとして窒素ガスを、分析カラムの平均線速度が 20 cm/sec となるように設定した。また、イオン化を行うチャンバー内はドライ雰囲気環境下で検討を実施した。

スキャン測定で各標準溶液を測定し、プリカーサーイオンを検討した。その結果、$[M+H]^+$または$[M^{\cdot}]^+$のスペクトルが確認された。ただし、UV-090においては、$[M+H]^+$または$[M^{\cdot}]^+$のイオン強度が他のイオンよりも小さかったため、最適なコーン電圧下で最も強度の大きいイオンをプリカーサーイオンとした。次に、各プリカーサーイオンに対するプロダクトイオン測定を実施し、最も強度の大きいイオンを定量イオンに、次に強度の大きいイオンを定性イオンに採用し、最適なコリジョン電圧を5～50 Vの範囲で検討した。各定量イオンのSRM

クロマトグラムを図 3 に示した。

0.01～1 μg/L の濃度範囲で内部標準法により作成した検量線の相関係数は、UV-234 及び UV-360 を除いて 0.998～1.000 の良好な直線性を示した(図 4)。UV-234 及び UV-360 は分子量が大きい化合物であり、揮発しにくいことから、0.01 μg/L(定量下限値の目標値相当濃度)のピークの *S/N* が 10 未満であり、設定した濃度範囲の検量線を作成できなかった。UV-234 及び UV-360 以外の BT 標準溶液(0.01 μg/L)の各ピークはいずれも *S/N* ≧ 10 であった。

2. LC-(APCI)MS/MS 測定条件の検討

LC 条件は、これまで検討した ESI 法と同一条件とし、MS 条件の検討を実施した。

スキャン測定で各標準溶液を測定し、プリカーサーイオンを検討した。次に、各プリカーサーイオンに対するプロダクトイオンスキャン測定を実施し、最も強度の大きいイオンを定量イオンに、次に強度の大きいイオンを定性イオンに採用した。その結果、ESI 法の SRM 条件と一致したため、ESI 法と同一条件を採用した。また、プリカーサーイオンの生成に最適なコロナ電圧を 0.3～20 μA の範囲で検討した結果、UV-360 を除く 12 種の BT において強度が最も大きかった 0.3 μA を採用した(図 5)。各定量イオンの SRM クロマトグラムを図 6 に示した。ESI 法と比較し、注入量の違いはあるものの、APCI 法ではすべての BT において、標準溶液(0.01 μg/L)のピーク面積値が小さい結果となった(表 1)。

0.01～1 μg/L の濃度範囲で内部標準法により作成した検量線の相関係数は、UV-P、UV-9、UV-234、UV-327、UV-328、UV-350 及び UV-928 については、0.997～1.000 の良好な直線性を示した(図 7)。一方で、UV-PS、UV-090、UV-320、UV-326、UV-329 及び UV-360 では 0.01 μg/L(定量下限値の目標値相当濃度)のピークの *S/N* が 10 未満であり、設定した濃度範囲の検量線を作成できなかった。UV-P、UV-9、UV-234、UV-327、UV-328、UV-350 及び UV-928 の BT 標準溶液(0.01 μg/L)の各ピークはいずれも *S/N* ≧10 であった。

2. 試験溶液調製法の追加検討

1) 抽出溶媒の検討

過去の報告[29]において抽出溶媒を検討した際、分析対象の BT は脂溶性の高い物質であるため、抽出溶媒にはアセトンを検討した。しかしながら、魚介類試料をアセトンで抽出した場合、試験溶液中に油分と疑われるメタノールに難溶性の物質が認められ、分析機器の感度低下を生じたため、抽出溶媒をメタノールに変更した。

本研究では、GC-(APCI)MS/MS を用いた分析法を検討するにあたって、抽出溶媒としてアセトンを採用可能か否か、昨年度の検討において UV-328 が 0.6 ng/g 含有されているカキ試料[21]を用いて再度検討した。試料をアセトンにより抽出し、*n*-ヘキサンへ転溶した後、シリカゲルカラム及びフロリジルミニカラムで精製し、*n*-ヘキサンに溶解し試験溶液とした。その結果、試験溶液には、難溶性の物質は認められなかった。この試験溶液を GC-(APCI)MS/MS を用いて分析したところ UV-328 が 0.6 ng/g 検出された(図 8)。同様に、アジ試料を用いて、抽出溶媒をアセトンまたはメタノールで抽出し、同様に調製し、最終溶媒を 2 mL とした試験溶液を GC-(APCI)MS/MS を用いて分析し、比較した。その結果、抽出溶媒による測定値の差異は認められなかった(表 2)。

2) ケイソウ土カラムの検討

昨年度の報告[21]において、TD 試料(10 群)では塩化ナトリウム水溶液を用いた *n*-ヘキサン転溶時にエマルジョンが発生し、有機層の分離が困難であった。そこで、本研究では、ケイソウ土カラムを用いた精製について検討した。一般的に、ケイソウ土カラムの使用法として、水系試料液/ヘキサンによる脱水・抽出やヘキサン/アセトニトリルによる脱脂・精製が知られている[26),27)]。すなわち、水系溶媒を負荷液とし、酢酸エチルやヘキサンを溶出液とすることで、水溶性成分を保持

し、脂溶性成分を抽出する脱水・抽出方法、または、ヘキサンを負荷液とし、アセトニトリルを溶出液とすることで、トリグリセライド等の脂肪を除去する脱脂・精製方法がある。

はじめに、ケイソウ土カラムからのBTの溶出パターンを確認するため、標準溶液を用いて検討した。1 μg/L 混合標準溶液 1 mL を乾固し、20 vol%、50 vol%、80 vol%アセトニトリル溶液 7 mL または、*n*-ヘキサン 7 mL に溶解して、ケイソウ土カラムに負荷した。ケイソウ土カラムを 5 分間吸引乾燥した後、各比率のアセトニトリル溶液で負荷したケイソウ土カラムは *n*-ヘキサン 100 mL で溶出した。一方、*n*-ヘキサンで負荷したケイソウ土カラムはアセトニトリル 100 mL で溶出させ、溶出状況を確認した(表 3 及び表 4)。なお、GC-(APCI)MS/MS 法による測定は、アセトニトリルによる溶出液の溶媒を 40℃以下で濃縮し、溶媒を除去した後、*n*-ヘキサンに溶解し、分析した。LC-(ESI)MS/MS 法による測定は、各溶出液の溶媒を 40℃以下で濃縮し、溶媒を除去した後、メタノールに溶解し、分析した。

n-ヘキサンによる溶出では、測定感度が不良であった UV-360 を除く 12 種を評価した。ケイソウ土カラムに 80 vol%アセトニトリル溶液 7 mL で負荷した後、*n*-ヘキサン 100 mL で溶出させた場合、UV-P 及び UV-326 を除く 10 種の BT については、良好な回収(79%～104%)が得られた(表 3)。一方、アセトニトリルによる溶出では UV-360 を除く 12 種の BT で良好な回収(73%～105%)が確認された(表 4)。*n*-ヘキサン溶出における UV-P 及び UV-326、アセトニトリル溶出における UV-360 については、溶出液から負荷量を大きく超えて検出されたことから、ケイソウ土カラム自体や操作中のコンタミネーションが疑われた。したがって、ケイソウ土カラムからのコンタミネーションがなく、脱脂効果が期待できることから、ケイソウ土カラムの負荷液に *n*-ヘキサン、溶出液にアセトニトリルを採用することとした。

また、アセトニトリルの溶出液量について検討したところ、95 mL の溶出液量で良好な回収(70%以上)が得られることを確認した(図 9)。

以上の結果より、ケイソウ土カラムによる精製は、負荷液に *n*-ヘキサン、溶出液にアセトニトリル 100 mL を採用することとした。

2. 試験溶液調製法の追加検討 1) 抽出溶媒の検討で GC-(APCI)MS/MS を用いた分析法において、抽出溶媒にはアセトンを採用した。しかしながら、LC-(ESI)MS/MS 法において、ケイソウ土カラム精製した後、シリカゲルカラム及びフロリジルカラムによる精製を実施したところ、試験溶液にメタノールに難溶性の物質が生じた。そこで、LC-(ESI)MS/MS 法による分析は、抽出溶媒をメタノールとした。

3. 分析法の比較

はじめに、標準溶液を用いて、GC-(APCI)MS/MS 法、LC-(APCI)MS/MS 法及び LC-(ESI)MS/MS 法の測定感度を比較した。各分析法における 0.01 μg/L(定量下限値の目標値相当濃度)のピーク面積値及び *S/N* を表 1 に示した。なお、注入量については、GC-(APCI)MS/MS 法では 1 μL、LC-MS/MS 法では 5 μL とした。ただし、GC-(APCI)MS/MS 法にあっては、GC カラム交換により、測定感度の低下が顕著にみられ、分析における再現性が懸念されたことから、注入量を増やした検討は実施しなかった。GC-(APCI)MS/MS 法、LC-(APCI)MS/MS 法と比較し、LC-(ESI)MS/MS 法では、標準溶液(0.01 μg/L)のピークにおける *S/N* が最も良好であった。

さらに、TD 試料(10 群)を B. 研究方法の 9. 試験溶液の調製(図 2-1、図 2-2)に従って調製した試験溶液をそれぞれの分析法で測定した。TD 試料(10 群)試験溶液の安定同位体標識化合物のピーク面積値について、標準溶液と比較したところ、LC-(ESI)MS/MS 法では 60%～ 85%であったのに対し、GC-(APCI)MS/MS 法では 23%～79%、LC-(APCI)MS/MS 法では 14%～47%と低い傾向であった(表 5)。また、LC-(APCI)MS/MS 法では、TD 試料(10 群)試験溶液の分

析後に標準溶液の分析を実施したところ、標準溶液の面積値の減少が顕著に認められた。そこで、各分析法における試料マトリックスによる測定値への影響について検討した。TD(10 群)試料試験溶液分析後の標準溶液のピーク面積値について、TD 試料(10 群)試験溶液分析前の標準溶液のピーク面積値と比較したところ、GC-(APCI)MS/MS 法では 77%～100%、LC-(ESI)MS/MS 法では 63%～120%であったのに対し、LC-(APCI)MS/MS 法では 22%～50%と低い値を示した(表 6)。今回の検討で用いた LC-(APCI)MS/MS 法の測定条件では、試料マトリックス中に含まれる夾雑物の蓄積等の影響によるイオン化抑制効果の可能性が示唆された。

これらの結果から、本研究において以降のブランク試験、添加回収試験及び BT 含量の定量定量を行う検討にあっては、分析対象化合物が最も多く、かつ標準溶液(0.01 μg/L)のピークにおける*S/N*が最も良好であったLC-(ESI)MS/MS 法を採用した。

4. ブランク試験及び定量下限値

操作ブランク試料を 5 併行で調製し、測定して得られたピーク面積値を表 7 に示した。UV-PS、UV-9、UV-090、UV-320 及び UV-350 については、標準溶液と同一保持時間に定量を妨害するピークは認められなかったことから、定量下限値は目標値である 0.05 ng/g とした。また、UV-327 及び UV-928 にあっては、操作ブランク試料において、標準溶液と同一保持時間に認められたピークの強度が標準溶液の 0.05 ng/g に相当するピーク強度の 1/10 未満であったことから、定量への影響は少ないと考えられたため、0.05 ng/g を定量下限値とした。一方で、UV-P、UV-234、UV-326、UV-328、UV-329 及び UV-360 については、ブランク試料において、0.05 ng/g に相当する標準溶液(0.01 μg/L)のピーク強度の 1/10 以上のピークが認められた。これらの BT については、操作ブランク試料の定量値の平均値及び標準偏差を求め、標準偏差の 10 倍以上を定量下限値と推定した。ただし、UV-328 にあっては、この値が 0.05 ng/g よりも小さかったため、0.05 ng/g を定量下限値として設定した。また、UV-P、UV-329 及び UV-360 にあっては、操作ブランクのばらつきが大きいことから、今回の分析においては、評価の対象外とした。

また、化審法第一種特定化学物質に指定されている UV-320 及び UV-328 については、耐容一日摂取量:TDI(UV-320)及び有害性評価値(UV-328)がそれぞれ示されている [29), 30)]。そこで、当該物質が定量下限値で含まれていると仮定したときの摂取量を推定した(表 8)。推定された摂取量は、それぞれの有害性評価値と比較して十分に低い値であった。推定に使用した一日摂取量は、厚生労働省が実施した令和 4 年～令和 5 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た各食品小分類の地域別摂取量を採用した(表 9)。

5. 添加回収試験

添加回収試験における回収率 100%相当の標準溶液、操作ブランク試料、TD 未添加試料及び TD 添加試料のクロマトグラムを図 10-1～図 10-13 に示した。ただし、7 群試料における UV-328 にあっては、未添加試料のピークが添加濃度の 10 倍程度の強度を示したため、添加濃度を 0.5 ng/g として添加回収試験を実施した。得られた標準溶液(0.2 μg/L)、操作ブランク試料、TD 未添加試料及び TD 添加試料のクロマトグラムを図 11 に示した。

UV-PS については、昨年度の報告において TD 試料(10 群)に分離困難な夾雑ピークが認められている。今回検討した 10 群以外の TD 試料においても同様に分離困難な、または、判別困難な夾雑ピークが確認されたため、UV-PS は評価の対象外とした。

また、UV-234 及び UV-326 については、添加濃度に比較して操作ブランクの面積値が大きいことから、今回の検討においては、評価の対象外とした。これらの点に関しては、今後、添加濃度

を増加して、添加回収試験を実施し、評価する必要がある。

TD 試料(6 群及び 13 群)において、UV-328 のピーク近傍に夾雑ピークが確認された。定量イオンは分離可能であったが、定性イオンにあっては、この夾雑ピークと同一保持時間にあるピークが大きく影響し、ピークが確認できなかった。そこで、6 群及び 13 群試料における UV-328 については、参考値として扱うこととした。

UV-P、UV-PS、UV234、UV-326、UV-329 及び UV-360 以外の 7 種の BT(UV-9、UV-090、UV-320、UV-327、UV-328、UV-350 及び UV-928)について、TD 試料(1 群～13 群)を用いた 5 併行の添加回収試験を実施した(表 10)。また、添加回収試験における安定同位体標識化合物の平均回収率を表 11 に示す。

1 群～3 群試料及び 5 群～13 群試料においては、概ね良好な真度(70%～116%)及び併行精度(0.3%～14.4%)が得られた。しかしながら、4 群試料については、良好な真度及び併行精度が得られなかった。さらに、4 群試料については、安定同位体標識化合物の平均回収率についても 40%未満のものが多く確認された。また、13 群試料については、真度及び併行精度は良好であったが、安定同位体標識化合物の平均回収率は、いずれも 40%未満と低い値を示していた。この点に関しては、試料中の油脂による影響が大きいと推察される。今後、試料量を減らすことでマトリックスによる影響の低減等の検討が必要であると考える。「食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン[14)]」では内標準物質の回収率の下限値が 40%とされていることから、本検討においては安定同位体標識化合物の回収率が 40%未満となった BT については当該 TD 試料の分析値を参考値として扱うこととした。

なお、添加回収試験のクロマトグラムより算出した *S/N* は、4 群試料を除いて検討したいずれの試料においても *S/N* ≧10 を満たしていた。

6. TD 試料中の BT 含量の分析

添加回収試験にて良好な結果が得られた 7 種 BT について、添加回収試験と同一の試料を用いて、試料中の BT 含量の分析を行った(表 12)。各試料における安定同位体標識化合物の回収率を表 13 に示した。UV-234 及び UV-326 については、添加回収試験において添加濃度に比べて操作ブランクが大きく評価不能としたが、参考値として上記試料中の BT 含量を分析した。

6 群及び 13 群試料における UV-328 については、夾雑ピークの影響で評価不能であったため、分析結果を参考値として示した。さらに、添加回収試験において、良好な真度及び併行精度が得られなかった 4 群試料における BT(UV-9、UV-090、UV-320、UV-328、UV-350 及び UV-928)及び添加回収試験において、安定同位体標識化合物の回収率が、40%未満となり、参考値として扱った BT(3 群試料における UV-928、4 群試料における UV-327、5 群試料における UV-327 及び UV-928、10 群試料及び 11 群試料における UV-928、12 群試料における UV-328 及び UV-928 及び 13 群試料におけるすべての BT)については、分析結果を参考値として示した。

また、本分析において、安定同位体標識化合物の回収率が、40%未満となった BT についても同様に、分析結果を参考値として示した。

7 群試料から UV-328 が 0.54 ng/g、10 群試料から UV-327 が 0.05 ng/g 検出された(図 12-1)。また、参考値ではあるが、3 群試料から UV-327 が 0.06 ng/g、UV-328 が 0.12 ng/g 検出された(図 12-2)。検出された各 BT のピークにおける定量イオン/定性イオンの強度比は標準溶液と比較して、72%～95%であった。その他の試料については、いずれも定量下限値未満であった。

一方で、4 群試料における UV-234、UV-326 及び 5 群試料における UV-326 については、操作ブランクの 3 倍以上の明らかなピークを確認した(図 13)。これらの定量イオン/定性イオンの強度比は標準溶液と比較して、概ね 96%～99%であった。これらの試料中に BT が含まれている可能

性が示唆された。

D. 結論

TD 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、ケイソウ土カラムで脱脂した後、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 で定量する方法を検討した。分析法では、GC-(APCI)MS/MS 法及び LC-(APCI)MS/MS 法による BT 分析の測定条件を検討し、LC-(ESI)MS/MS 法との測定感度を比較した。その結果、分析対象化合物数及び測定感度(*S/N*)が最も良好であった LC-(ESI)MS/MS 法を採用した。

検討した分析法の適用性を検証するために、TD 試料(1 群～13 群)を用いて添加回収試験を実施した結果、13 種のうち 7 種の BT について、1 群～3 群試料及び 5 群～13 群試料においては、概ね良好な真度(70%～116%)及び併行精度(0.3%～14.4%)が得られた。一方で、4 群試料については、良好な結果が得られず、試料量の変更等の検討が必要であることが示唆された。また、UV-234 及び UV-326 については、添加濃度と比較して操作ブランクの面積値が大きかったことから、今後、適切な添加濃度に変更し、再度添加回収試験を実施することで、分析法の性能を評価することが可能であると考えられる。また、操作ブランクのばらつきが大きかった UV-P、UV-329 及び UV-360 については、引き続きコンタミネーションの要因を探り、低減させる方法を検討することが望ましい。

本法を用いて TD 試料における BT 含量の測定を行った結果、7 群試料から UV-328 が 0.54 ng/g、10 群試料から UV-327 が 0.05 ng/g 検出された。また、TD 試料中に複数の BT が極微量であるが含まれている可能性が示唆された。

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/ConferenceoftheParties/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 (PPARα) 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ド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
19) Adebayo J. Akinboye *et al.*: Development of an analytical method and risk characterization for benzotriazole ultraviolet stabilizers in various foods. Food Chemistry, Volume 482, 144081, 2025
20) 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
21) 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)
22) 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「化学物質リスク研究事業 室内空気汚染化学物質対策の推進に資する総合的研究」分担研究報告書(室内空気中化学物質の標準試験法の整備/室内環境中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の試験法開発および実態調査)
23) 山口夏純 ほか:LC-MS/MS を用いた生物試料中ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤 UV-328 の分析法の検討. *第 4 回環境化学物質 3 学会合同大会要旨*, P-101, 2025
24) 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.
25) 佐藤信武 ほか:質量分析における新しいイオン化技術. *日本農薬学会誌* 41(2), 223-235. 2016
26) 上野英二:多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィーの農薬残留分析への利用. *日本農*

薬学会誌, 35(1), 74-78, 2010
27) 飯島和昭 ほか:多孔性ケイソウ土とグラファイトカーボンブラック連結カラムによる残留農薬分析法. *日本農薬学会誌*, 31(2), 190-202, 2006
28) 小林麻紀 ほか:LC-MS/MS による畜水産物中のフルオピコリド分析法. *食品衛生学雑誌*, Vol.57 No.4, 89－95, 2016
29) 経済産業省 平成18年度第1回 化学物質審議会安全対策部会 資料 2-(2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4,6-ジ-tert ブチルフェノールについて, 2006
30) 独立行政法人製品評価技術基盤機構製品含有 化学物質のリスク評価 UV-328, 2023
31) 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「化学物質リスク研究事業 室内空気汚染化学物質対策の推進に資する総合的研究」分担研究報告書(室内空気中化学物質の標準試験法の整備/室内環境中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の試験法開発および実態調査)
32) 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)

F. 研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

表 1 各分析法における標準溶液(0.01 μg/L)のピーク面積値及び *S/N* の比較

分析法	GC-(APCI)MS/MS 法		LC-(APCI)MS/MS 法		LC-(ESI)MS/MS 法	
注入量	1 μL		5 μL		5 μL	
BT	面積値	*S/N*	面積値	*S/N*	面積値	*S/N*
UV-P	591	36	2588	37	6115	55
UV-PS	2364	108	236	3	4812	119
UV-9	1140	32	303	33	8915	39
UV-090	672	23	292	5	7887	30
UV-234	388	3	859	18	23209	129
UV-320	1544	74	＜100	＜3	7181	89
UV-326	773	12	＜100	＜3	1337	16
UV-327	1585	24	123	25	2323	34
UV-328	1733	60	524	44	7398	289
UV-329	940	38	＜100	＜3	2231	49
UV-350	744	25	3405	14	10150	255
UV-360	-	-	＜100	＜3	23547	3909
UV-928	1577	141	343	24	27169	1552

-:分析未実施

表 2 アジ試料におけるアセトン抽出及び
メタノール抽出による検出傾向

BT	アジ試料における BT 測定値(ng/g)	
	アセトン抽出	メタノール抽出
UV-P	39.0	42.6
UV-PS	ND	ND
UV-9	ND	ND
UV-090	0.1	0.1
UV-234	-	-
UV-320	0.0	0.0
UV-326	4.9	5.9
UV-327	0.3	0.3
UV-328	0.2	0.3
UV-329	4.8	5.4
UV-350	ND	ND
UV-360	-	-
UV-928	ND	ND

ND:0.02 ng/g 未満

-:検量線作成不能

分析機器:GC-(APCI)MS/MS

表 3 *n*-ヘキサン溶出時のケイソウ土カラムから BT の溶出率

BT	BT 溶出率(%)		
	負荷液のアセトニトリル比率		
	20 vol%	50 vol%	80 vol%
UV-P	454	548	608
UV-PS	91	81	93
UV-9	91	80	98
UV-090	92	94	96
UV-234	66	82	94
UV-320	78	92	96
UV-326	1668	1085	194
UV-327	76	84	99
UV-328	67	85	92
UV-329	174	101	79
UV-350	86	82	104
UV-360	-	-	-
UV-928	67	90	97

-:検量線作成不能

最終溶媒:*n*-ヘキサン 10 mL

分析機器:GC-(APCI)MS/MS

表 4　アセトニトリル溶出時のケイソウ土カラムから BT の溶出率

BT	BT 溶出率(%)
UV-P	104
UV-PS	84
UV-9	83
UV-090	73
UV-234	91
UV-320	90
UV-326	101
UV-327	93
UV-328	94
UV-329	105
UV-350	93
UV-360	313
UV-928	97

最終溶媒:メタノール　10 mL

分析機器:LC-(ESI)MS/MS

表 5 TD 試料(10 群)における安定同位体標識化合物の回収率

BT	安定同位体標識化合物のピーク面積値 TD 試料(10 群)試験溶液 / 検量線用標準溶液の平均値(%)		
	GC-(APCI)MS/MS	LC-(APCI)MS/MS	LC-(ESI)MS/MS
UV-Pd3	23	25	76
UV-PSd4	25	30	85
UV-234d4	79	47	69
UV-320d4	59	14	78
UV-326d3	57	43	63
UV-327d3	58	24	60
UV-328d4	52	29	70
UV-329d4	25	28	82
UV-350d4	59	47	73
UV-928d4	55	41	71

表 6　TD 試料(10 群)試験溶液分析前後における標準溶液の面積値の比

	標準溶液(1 μg/L)のピーク面積値 TD 試料(10 群)試験溶液分析後 / TD 試料(10 群)試験溶液分析前(%)		
	GC-(APCI)MS/MS	LC-(APCI)MS/MS	LC-(ESI)MS/MS
UV-P	100	34	94
UV-PS	98	27	120
UV-9	97	35	116
UV-090	94	30	110
UV-234	77	30	108
UV-320	92	26	116
UV-326	99	22	104
UV-327	88	23	98
UV-328	91	24	111
UV-329	100	25	113
UV-350	88	26	116
UV-360	-	50	90
UV-928	92	31	63

-:分析未実施

表 7　操作ブランク試料と標準のピーク面積値及び定量下限値

BT	ピーク面積値		定量下限値 (ng/g)
	標準溶液 (0.01 μg/L)	ブランクの平均値 (n=5)	
UV-P	6114.5	636399.6	17743.2
UV-PS	4584.7	-	0.05
UV-9	8153.9	-	0.05
UV-090	7886.5	-	0.05
UV-234	23209.3	59224.4	0.21
UV-320	6575.8	-	0.05
UV-326	1337.5	16398.6	0.63
UV-327	2323.5	228.7	0.05
UV-328	6409.0	1867.1	0.05
UV-329	2249.9	4791.1	15.1
UV-350	8736.5	-	0.05
UV-360	32930.1	30794.0	1.99
UV-928	27168.8	1185.9	0.05

-：S/N ＜ 10

表 8 定量下限値相当濃度における BT 摂取量の推定

BT	定量下限値 (ng/g)	一日摂取量 (g)	推定摂取量 (μg/day)	TDI 等
UV-320	0.05	2421.15	0.1211	耐容一日摂取量(TDI) 50 μg/day(体重 50kg)
UV-328	0.05	2421.15	0.1211	有害性評価値 1,000 μg/day(体重 50kg)

表 9　一日摂取量の内訳

	食品群	一日摂取量(g)
1 群	米類	275.30
2 群	米以外の穀類・いも類・種実類	173.80
3 群	砂糖類・菓子類	33.50
4 群	油脂類	11.95
5 群	豆類	55.60
6 群	果実類	93.25
7 群	緑黄色野菜類	97.90
8 群	その他の野菜類・きのこ類・海藻類	189.80
9 群	嗜好飲料類	585.50
10 群	魚介類	57.15
11 群	肉類・卵類	148.15
12 群	乳類	136.10
13 群	調味料類	63.15
14 群	飲料水	250.00
	Total	2421.15

表 10 添加回収試験(真度及び併行精度)

BT	真度(%)												
	1 群	2 群	3 群	4 群	5 群	6 群	7 群	8 群	9 群	10 群	11 群	12 群	13 群
UV-9	88	109	103	<70	94	111	101	96	105	104	89	95	(106)
UV-090	78	76	86	<70	86	70	77	83	71	92	92	84	(87)
UV-320	112	97	98	<70	100	96	106	105	104	99	97	106	(110)
UV-327	98	104	102	(80)	(116)	101	107	97	111	90	105	104	(112)
UV-328	108	99	99	(<70)	103	(79)	110	103	100	90	101	(111)	(104)
UV-350	109	105	102	(<70)	104	108	106	107	105	102	106	111	(112)
UV-928	102	99	(105)	(<70)	(82)	108	100	100	102	(103)	(107)	(85)	(116)

( ):参考値

添加濃度:0.05 ng/g (7 群の UV-328 は 0.5 ng/g)

BT	併行精度(%RSD)												
	1 群	2 群	3 群	4 群	5 群	6 群	7 群	8 群	9 群	10 群	11 群	12 群	13 群
UV-9	7.8	3.3	4.3	33.9	4.6	2.6	2.8	4.9	7.6	2.1	4.2	3.1	(5.8)
UV-090	3.9	5.1	7.2	12.1	3.2	6.3	5.6	2.4	2.4	5.7	7.7	4.7	(4.7)
UV-320	3.7	2.3	1.6	4.1	2.3	7.0	3.0	3.1	2.4	3.5	4.6	2.4	(6.2)
UV-327	7.0	4.1	1.6	(39.0)	(2.1)	5.9	2.8	6.1	2.0	4.8	5.3	6.7	(3.7)
UV-328	6.5	0.9	1.5	(156)	3.6	(4.3)	1.5	3.1	0.3	8.7	14.4	(2.5)	(12.6)
UV-350	5.9	3.4	3.8	(3.3)	1.9	2.0	6.8	5.0	1.6	4.4	3.5	2.2	(6.1)
UV-928	3.2	3.4	(7.0)	(46.4)	(13.2)	12.7	1.3	2.1	4.3	(2.0)	(2.7)	(1.9)	(7.4)

( ):参考値

添加濃度:0.05 ng/g (7 群の UV-328 は 0.5 ng/g)

表 11 添加回収試験(安定同位体標識化合物の平均回収率)

BT (安定同位体標識化合物)	安定同位体標識化合物の平均回収率(%)												
	1 群	2 群	3 群	4 群	5 群	6 群	7 群	8 群	9 群	10 群	11 群	12 群	13 群
UV-9 (UV-P*d*3)	71	79	61	67	79	80	90	81	63	86	101	78	35
UV-090 (UV-PS*d*4)	71	75	65	68	80	74	83	81	63	78	89	77	36
UV-320 (UV-320*d*4)	80	76	60	43	65	82	87	88	74	79	71	69	37
UV-327 (UV-327*d*3)	76	68	50	26	23	78	86	83	70	63	56	56	32
UV-328 (UV-328*d*4)	74	62	48	11	44	58	82	81	70	51	60	31	25
UV-350 (UV-350*d*4)	75	75	57	39	64	81	85	82	70	77	72	65	37
UV-928 (UV-928*d*4)	59	65	19	3	38	60	86	65	68	31	36	16	28

__:40%未満

表 12 TD 試料中の BT 含量分析

BT	分析結果(ng/g)												
	1 群	2 群	3 群	4 群	5 群	6 群	7 群	8 群	9 群	10 群	11 群	12 群	13 群
UV-9	ND	ND	ND	(ND)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	(ND)
UV-090	ND	ND	ND	(ND)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	(ND)
UV-234	(ND)	(ND)	(Tr)	(Tr*)	(ND)	(ND)	(ND)	(ND)	(ND)	(ND)	(ND)	(ND)	(Tr)
UV-320	ND	ND	ND	(Tr)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	(ND)
UV-326	(ND)	(ND)	(ND)	(Tr*)	(Tr*)	(ND)	(ND)	(ND)	(ND)	(Tr)	(Tr)	(ND)	(Tr)
UV-327	ND	ND	(0.06)	(Tr)	(ND)	ND	ND	ND	ND	0.05	ND	ND	(ND)
UV-328	ND	ND	(0.12)	(Tr)	ND	(ND)	0.54	ND	ND	ND	ND	(ND)	(ND)
UV-350	ND	ND	ND	(Tr)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	(ND)
UV-928	ND	(ND)	(ND)	(ND)	(ND)	ND	ND	ND	ND	(ND)	(ND)	(ND)	(ND)

ND:定量下限値未満

(ND):定量下限値未満(参考値)

(Tr):操作ブランク以上のピーク検出(参考値)

(Tr*):操作ブランクの 3 倍以上のピーク検出(参考値)

表 13　TD 試料中の BT 含量分析(安定同位体標識化合物の回収率)

BT (安定同位体標識化合物)	安定同位体標識化合物の回収率(%)												
	1 群	2 群	3 群	4 群	5 群	6 群	7 群	8 群	9 群	10 群	11 群	12 群	13 群
UV-9 (UV-P*d*3)	75	95	48	76	79	79	92	79	63	83	103	86	43
UV-090 (UV-PS*d*4)	76	95	43	76	88	76	86	79	67	76	93	86	40
UV-234 (UV-234*d*4)	81	90	51	30	70	91	86	73	62	69	64	68	43
UV-320 (UV-320*d*4)	82	100	47	44	70	86	86	85	72	77	72	80	47
UV-326 (UV-326*d*3)	87	90	33	59	69	78	84	84	73	64	59	71	38
UV-327 (UV-327*d*3)	82	90	39	26	27	78	88	78	65	62	54	65	32
UV-328 (UV-328*d*4)	67	91	39	7	65	62	75	80	65	69	57	27	41
UV-350 (UV-350*d*4)	79	98	45	39	71	81	86	81	69	73	72	74	45
UV-928 (UV-928*d*4)	49	80	20	3	65	46	95	84	58	71	29	18	14

__:40%未満

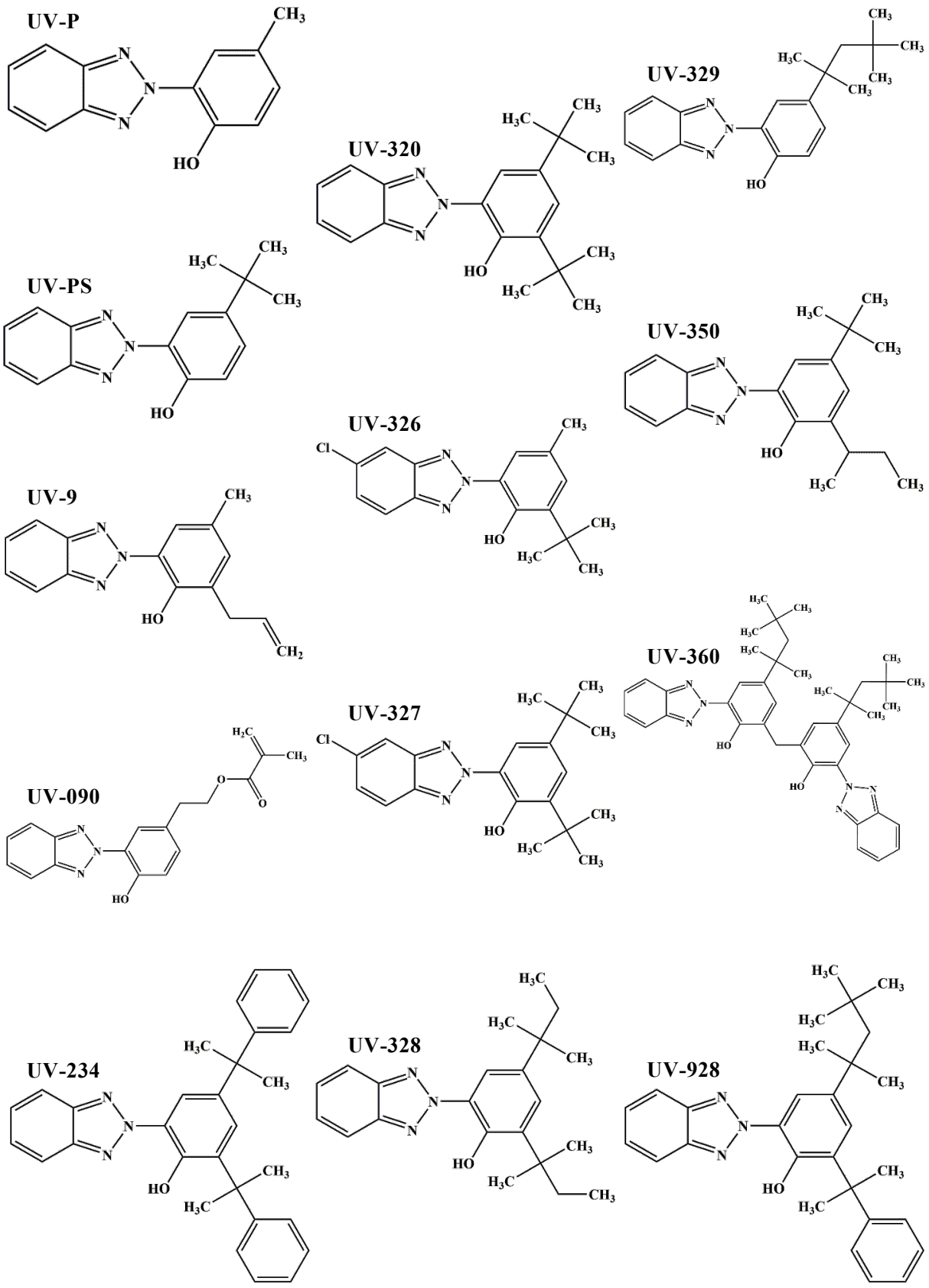


図 1　分析対象とした BT の構造式

秤　取

↓ 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

ケイソウ土カラム

↓ *n*-ヘキサン 7 mL を加えて溶解し、全量負荷

↓ 吸引乾燥

↓ アセトニトリルを 100 mL で溶出

↓ 溶出液を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 5 mL とする

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 2-1　LC-MS/MS 試験溶液の調製方法（分析法フローチャート）

秤　取

↓ 試料：5.0 g

↓ 内標準物質添加

アセトン抽出

↓ アセトン 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

↓ 残留物にアセトン 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

↓ 上清を合わせてアセトンで 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

ケイソウ土カラム

↓ *n*-ヘキサン 7 mL を加えて溶解し、全量負荷

↓ 吸引乾燥

↓ アセトニトリルを 100 mL で溶出

↓ 溶出液を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

↓ *n*-ヘキサンを加えて正確に 5 mL とする

試験溶液

↓

GC-MS/MS

図 2-2　GC-（APCI）MS/MS 試験溶液の調製方法（分析法フローチャート）

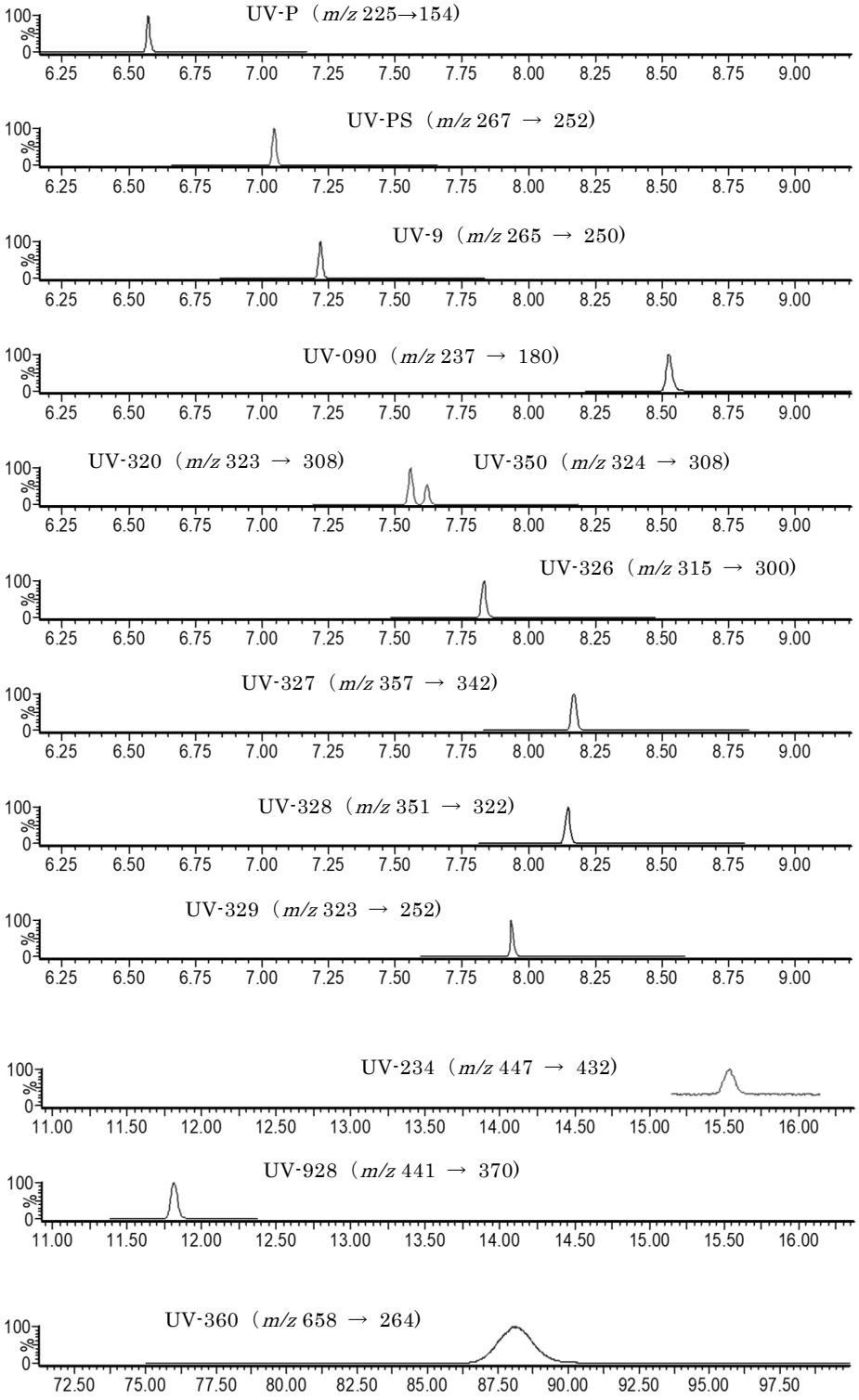


図 3　GC-(APCI)MS/MS 分析における BT 標準溶液の SRM クロマトグラム
（UV-360 以外の BT：1 μg/L、UV-360：100 μg/L）

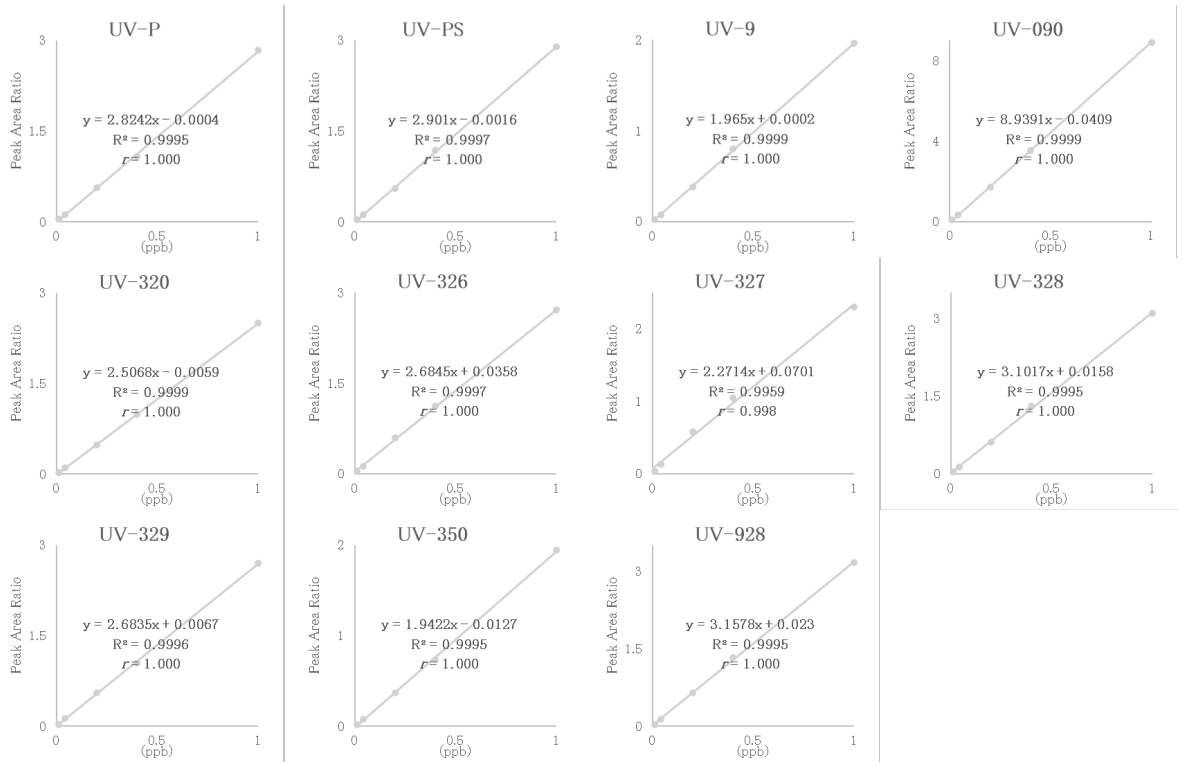


図 4　GC-(APCI)MS/MS 分析における検量線(濃度範囲:0.01～1 μg/L)

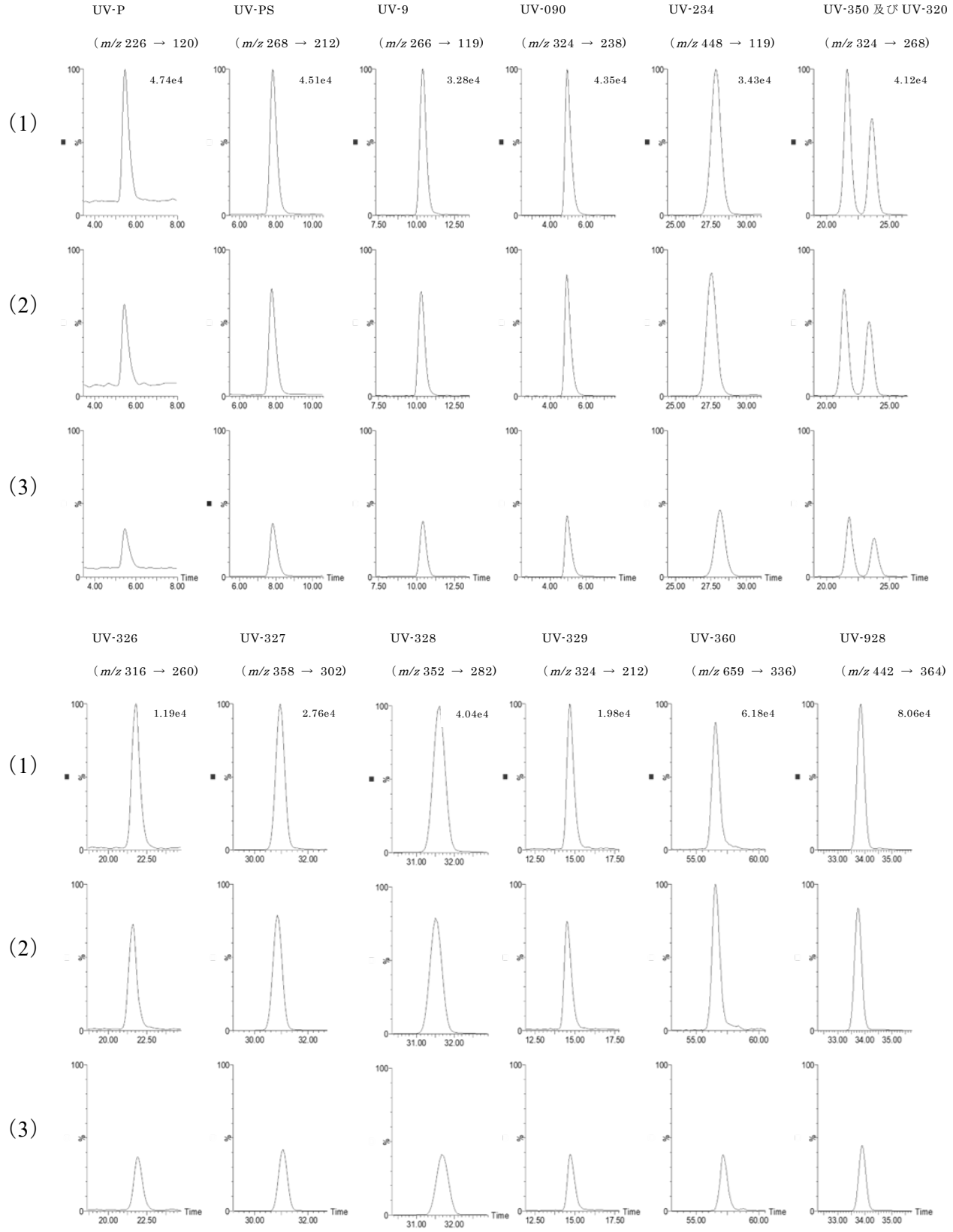


図 5 コロナ電圧条件の検討 標準溶液(各 1 µg/L)の SRM クロマトグラム

(1) 0.3 µA

(2) 3 µA

(3) 20 µA

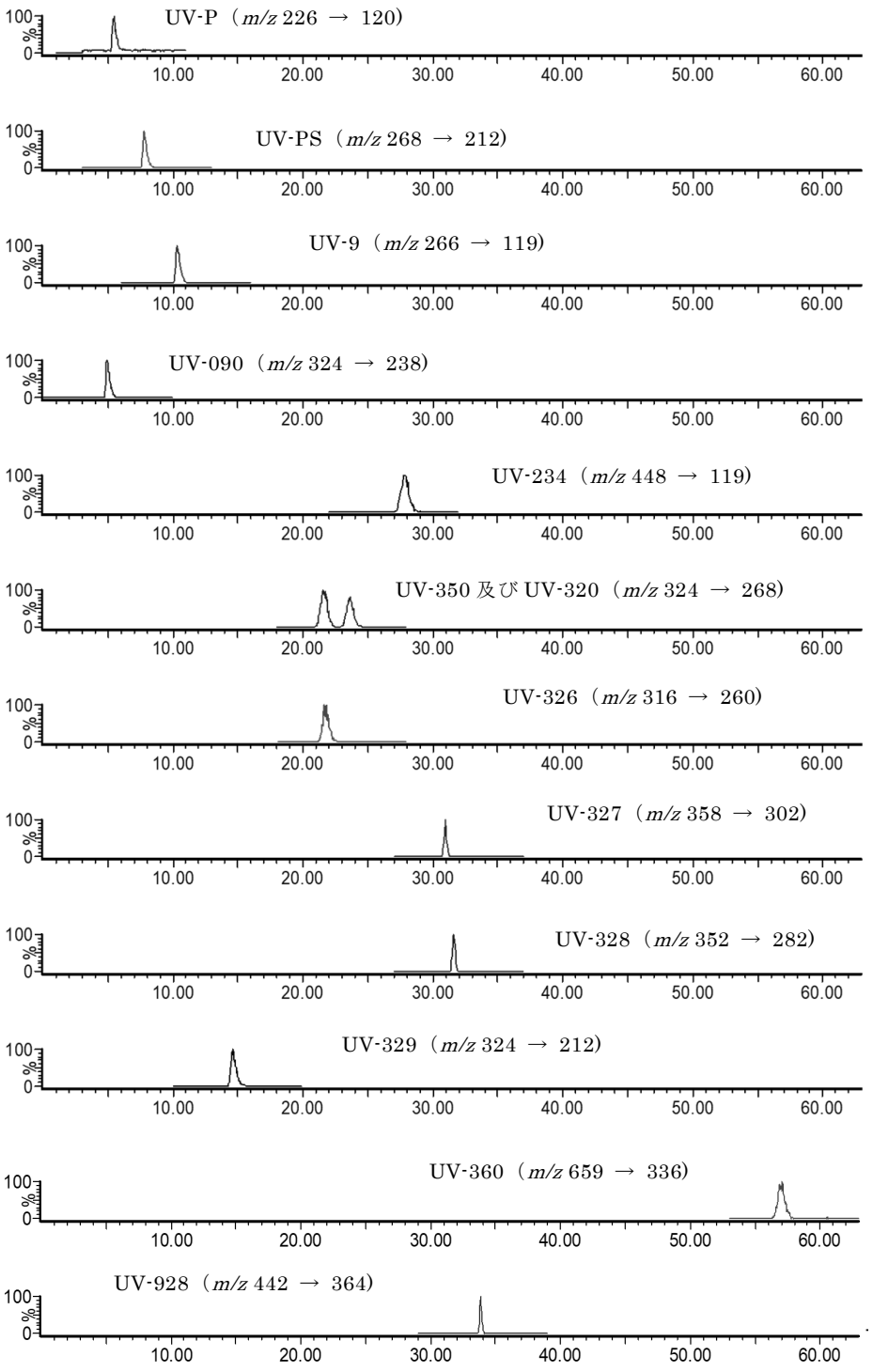


図 6　LC-(APCI)MS/MS 分析における BT 標準溶液(1 μg/L)の SRM クロマトグラム

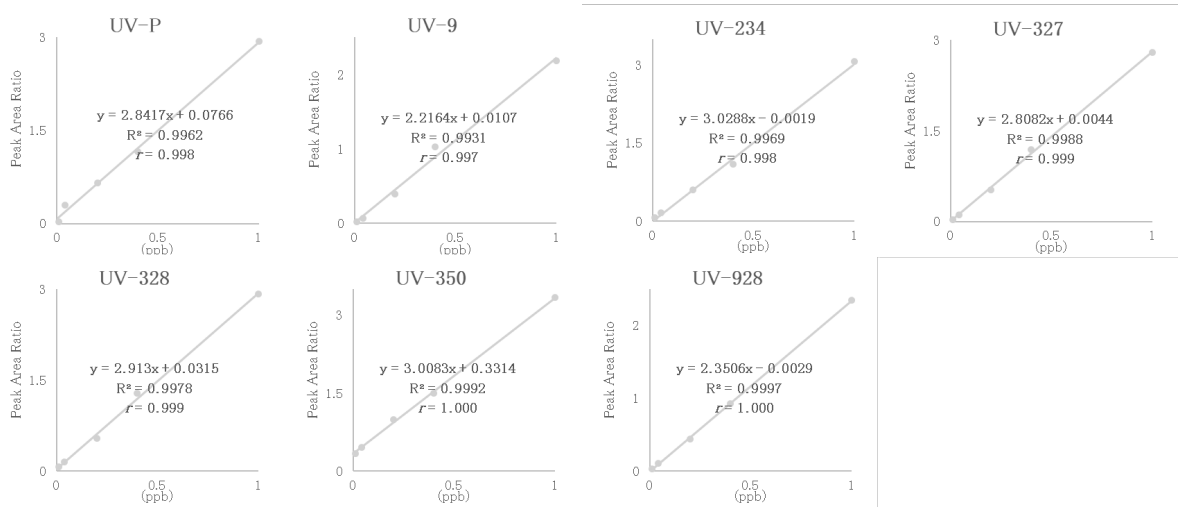


図 7　LC-(APCI)MS/MS 分析における検量線(濃度範囲:0.01～1 μg/L)

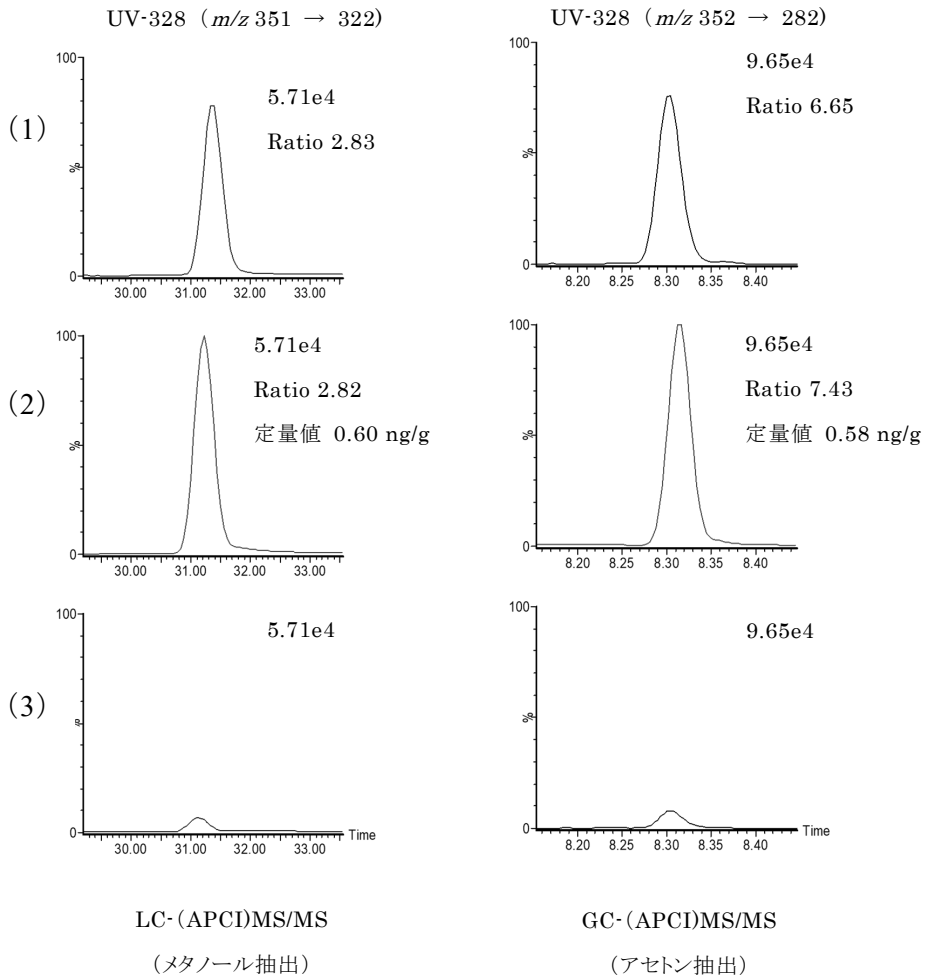


図 8　カキ試料における UV-328 の SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液（各 0.04 μg/L）

(2)　試料ブランク（カキ）

(3)　操作ブランク

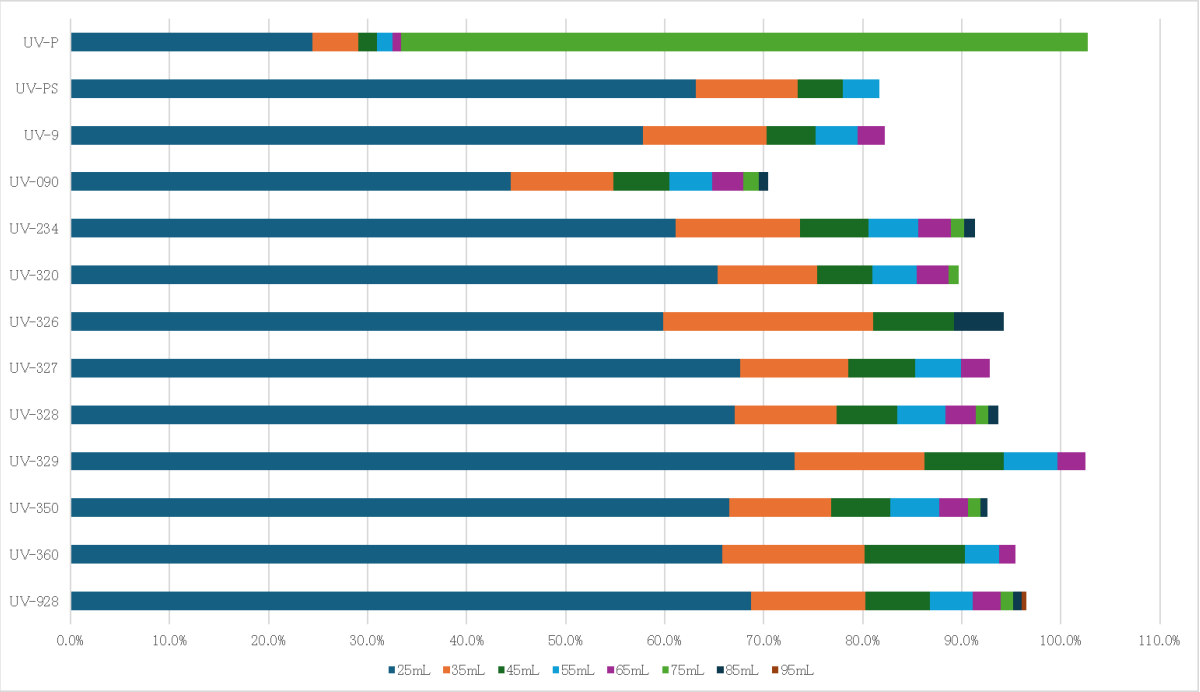


図 9　アセトニトリル溶出量によるケイソウ土カラムからの BT 溶出率（%）

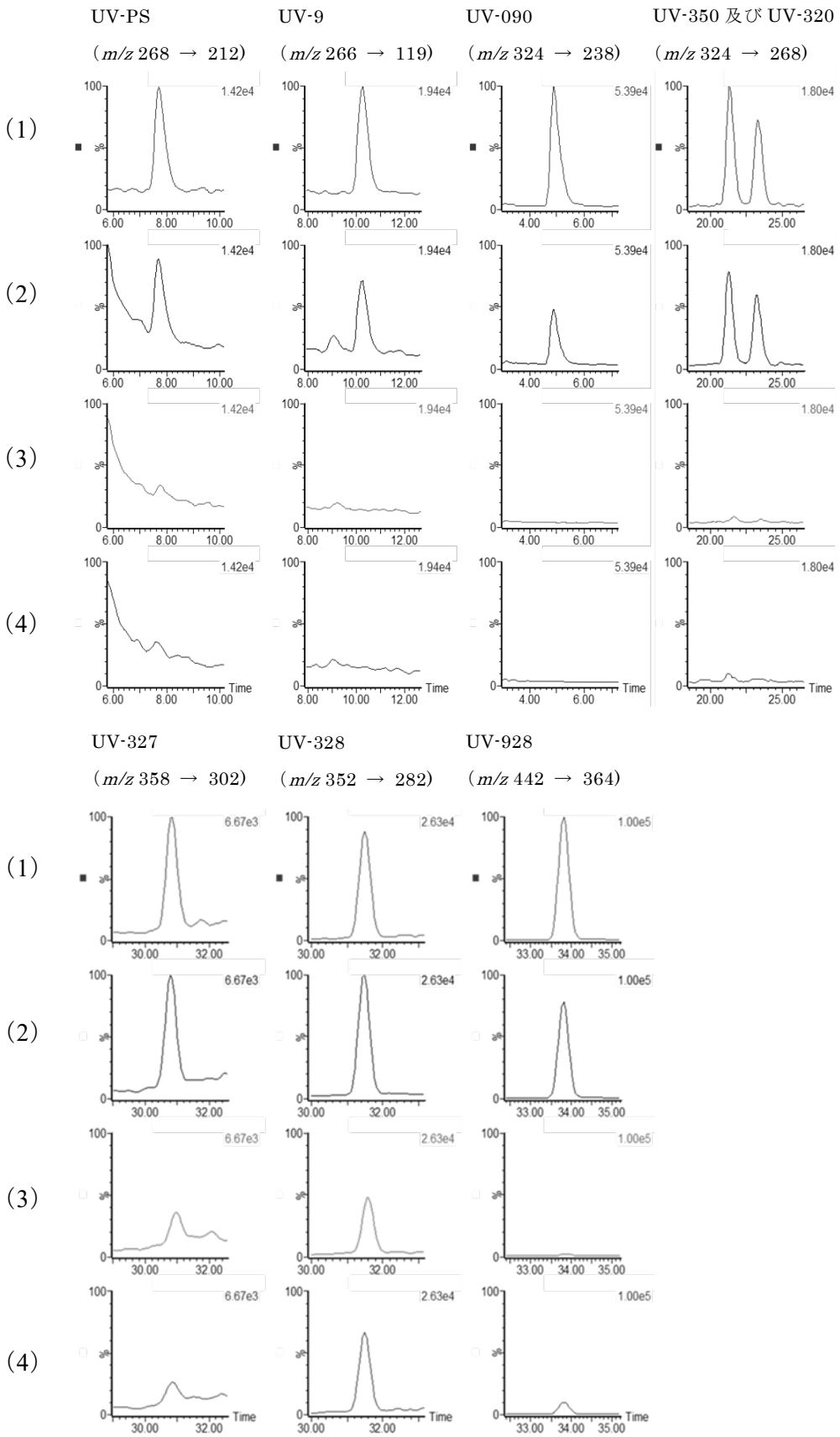


図 10-1　添加回収試験（1 群）における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液（各 0.01 μg/L）

(2)　TD 添加回収試料（0.05 ng/g）

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

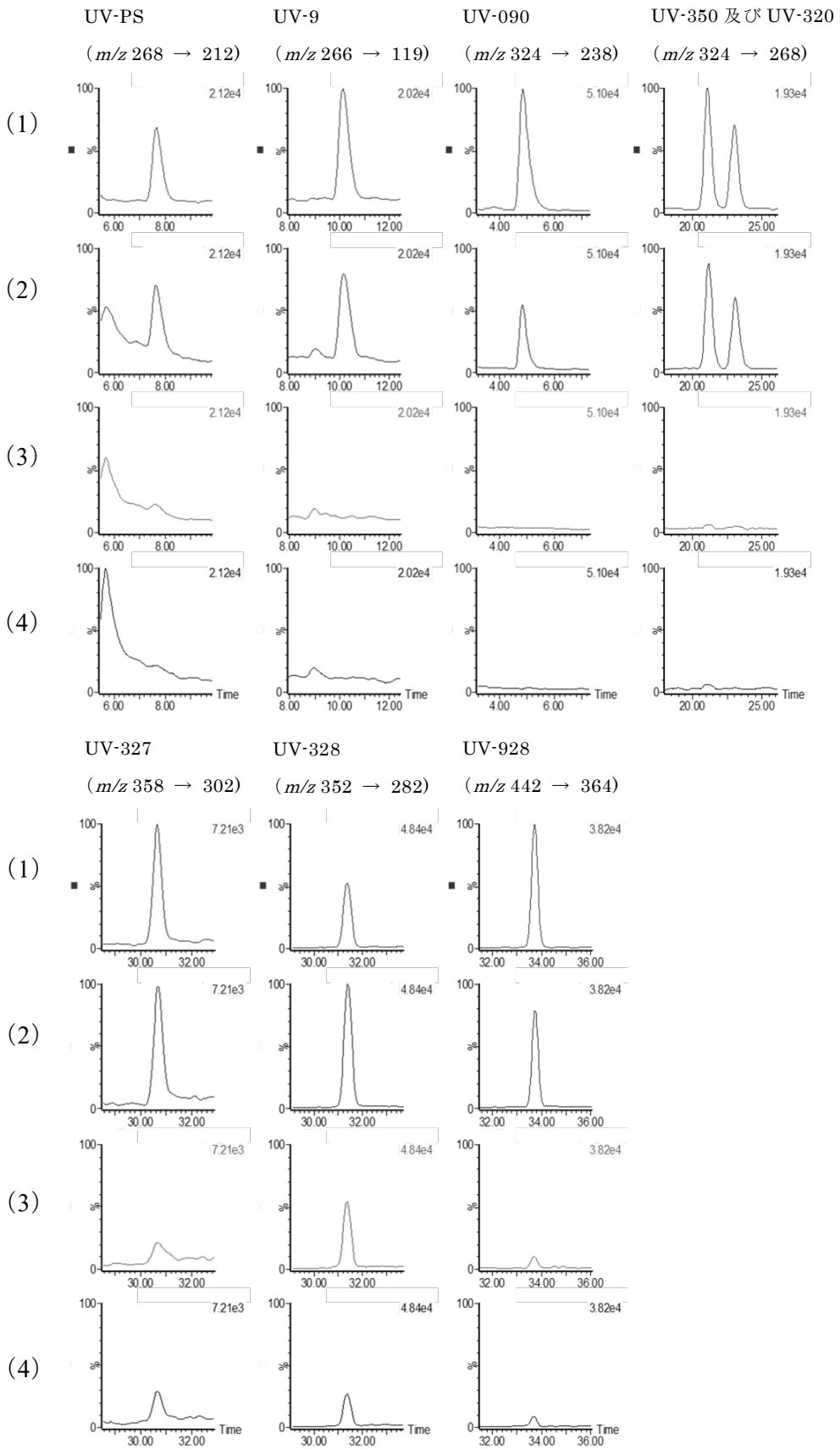


図 10-2　添加回収試験(2 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

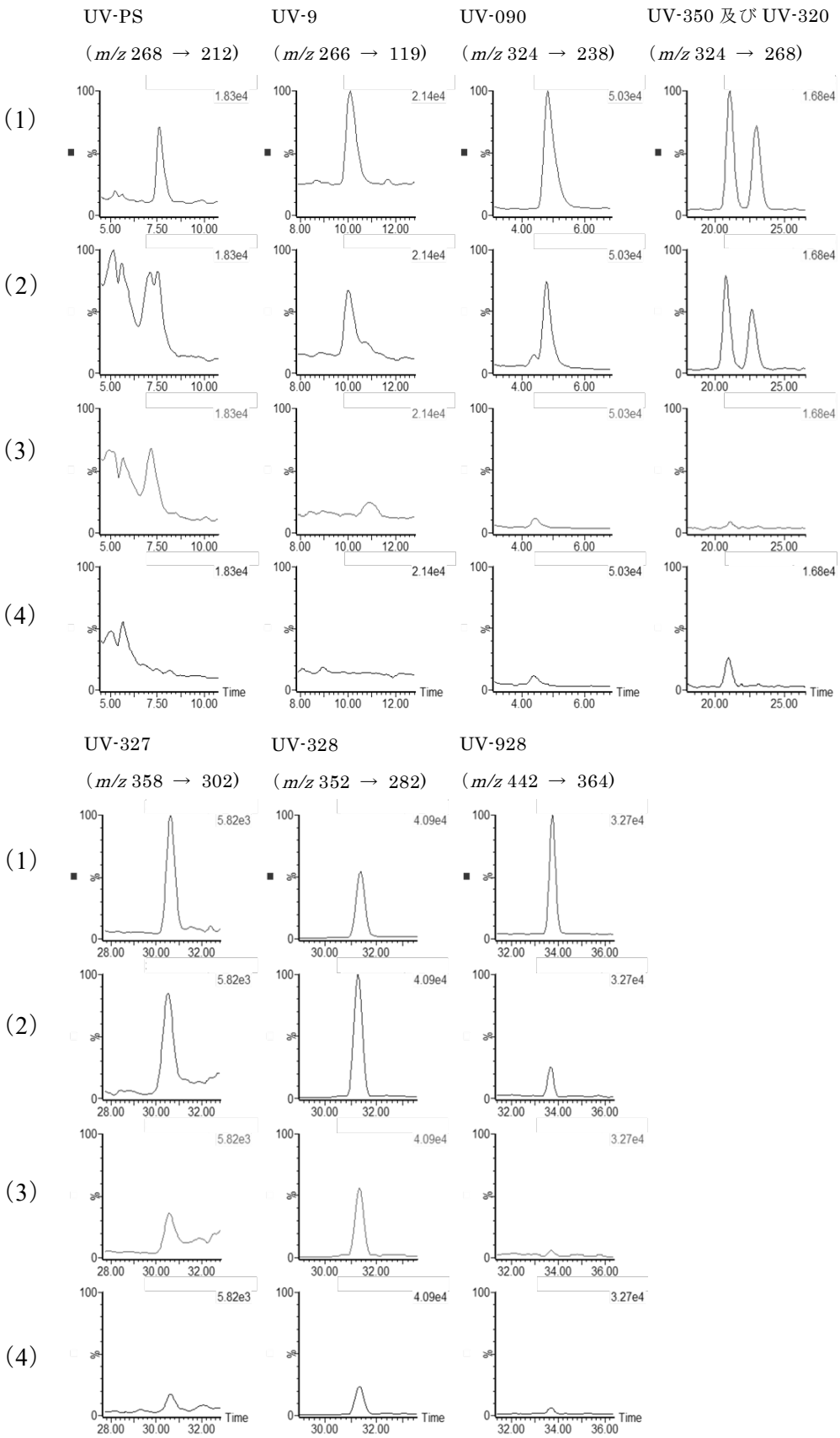


図 10-3　添加回収試験(3 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

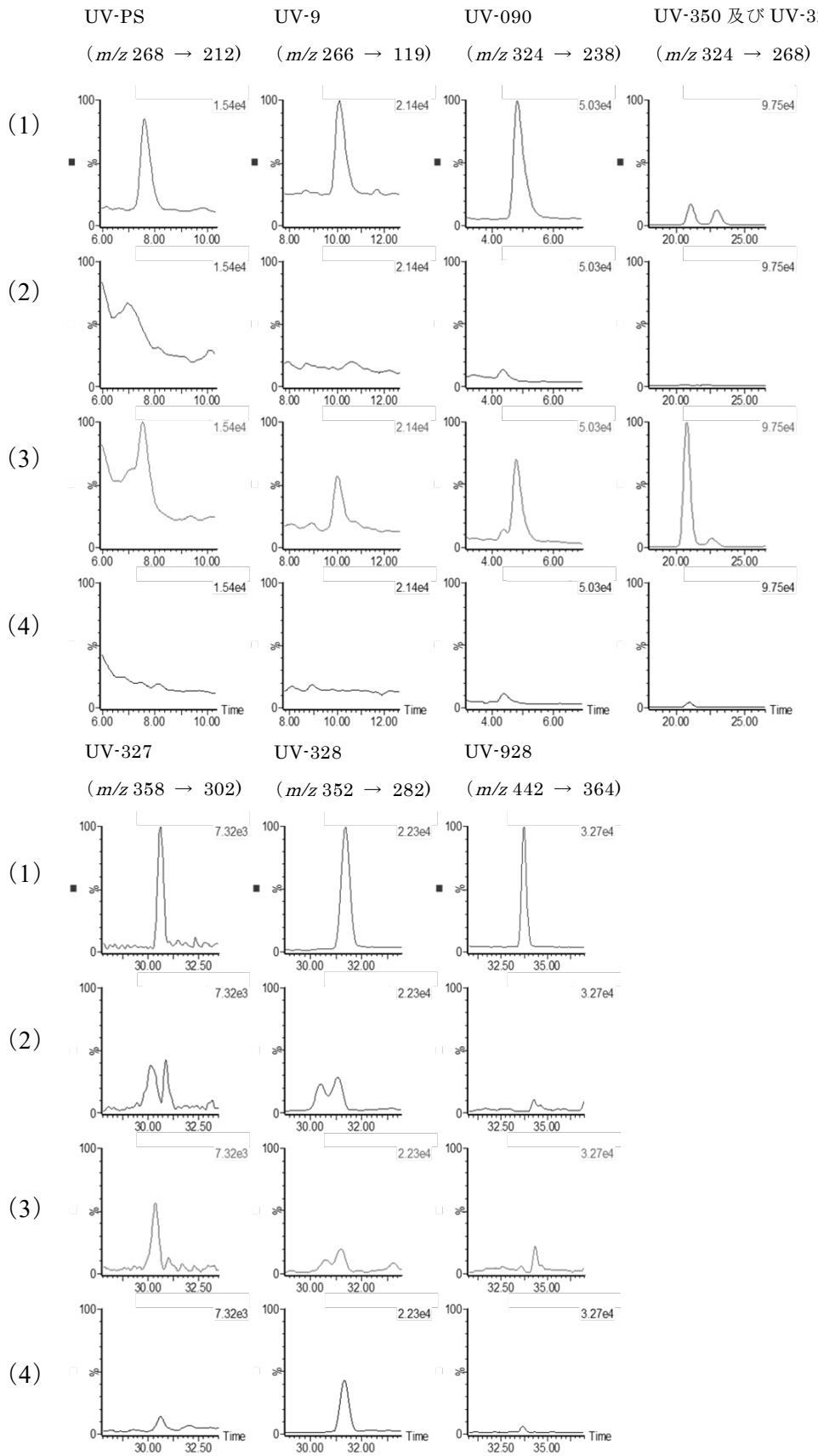


図 10-4　添加回収試験(4 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

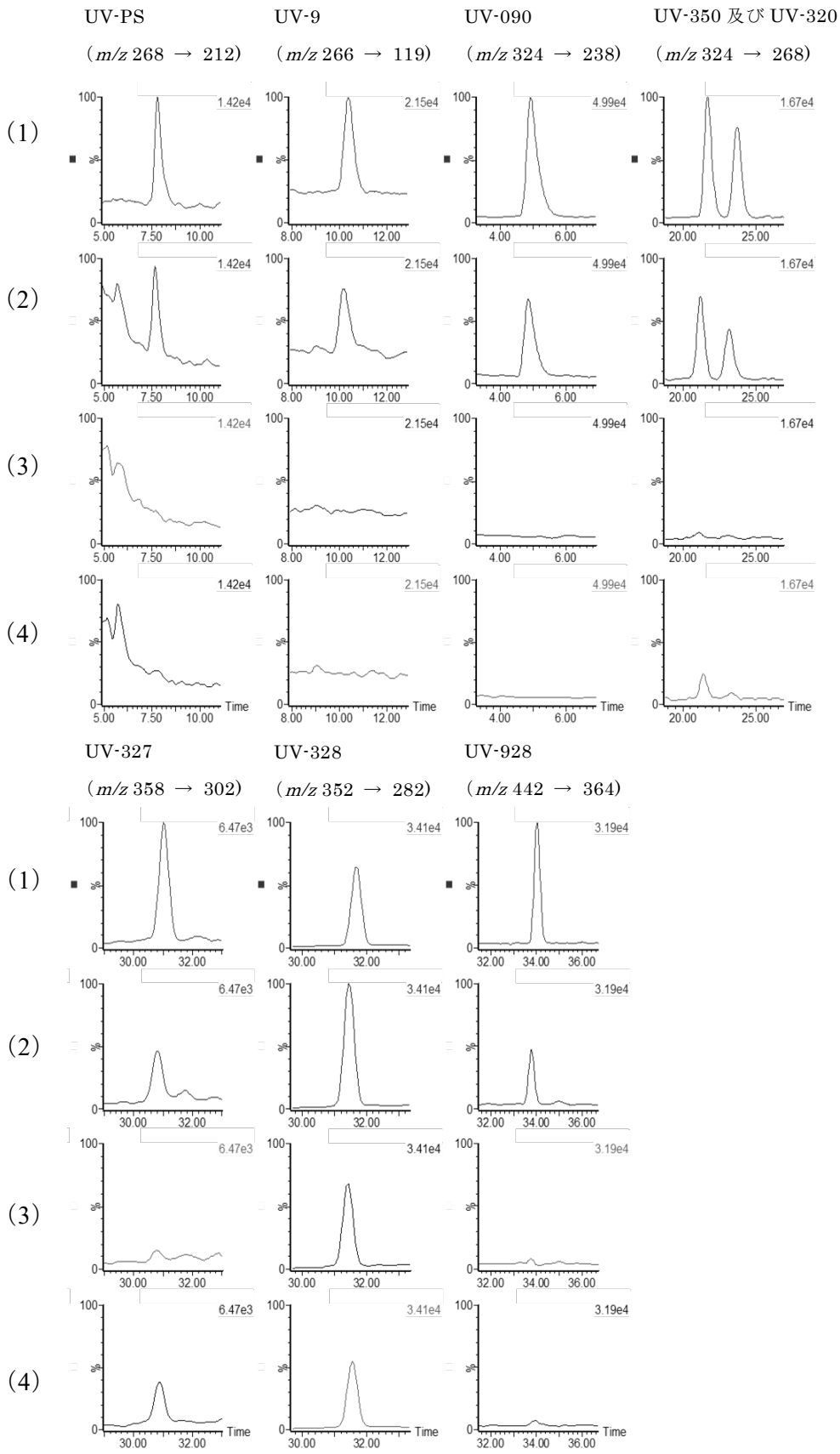


図 10-5　添加回収試験(5 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

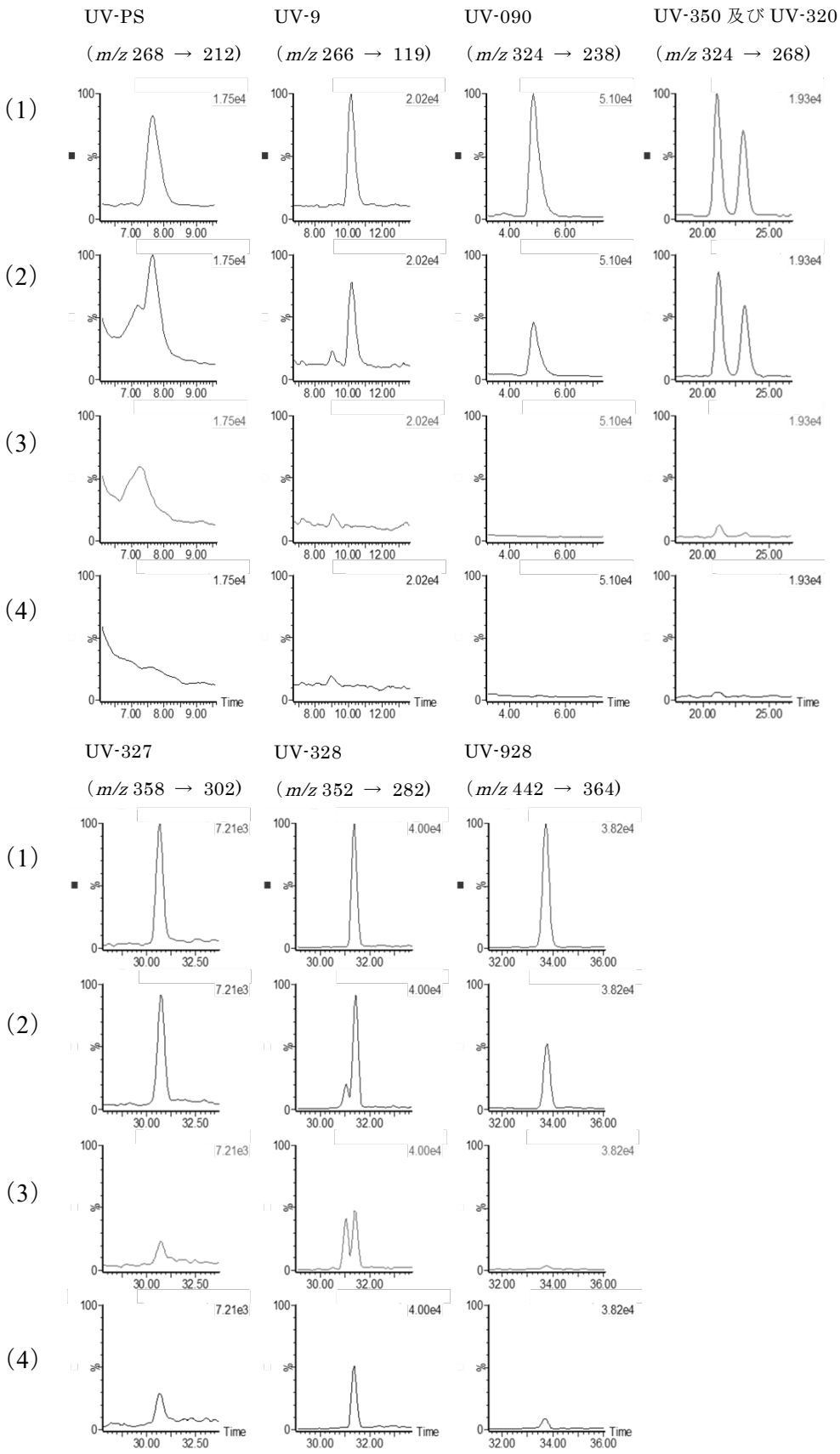


図 10-6　添加回収試験(6 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

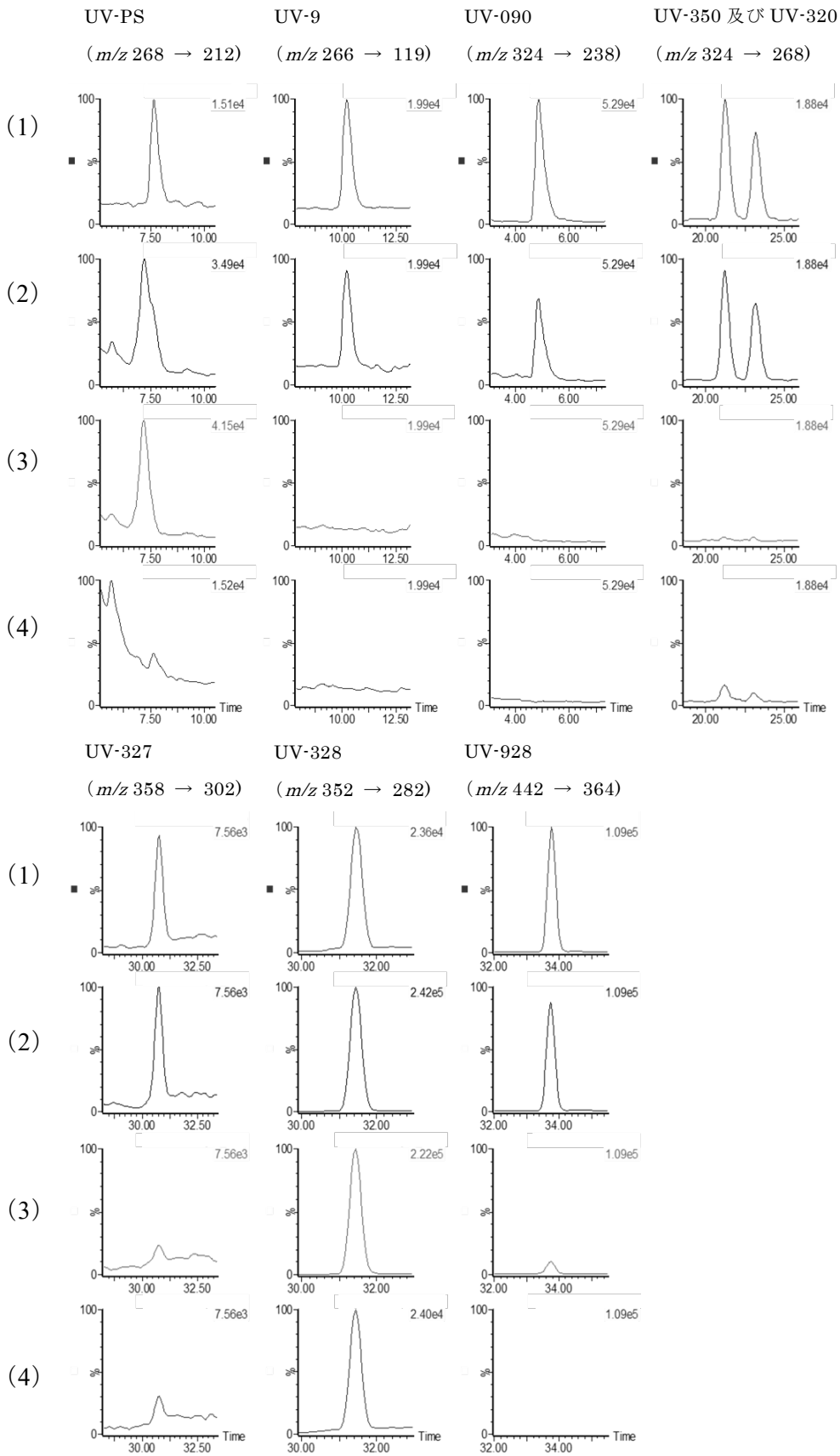


図 10-7　添加回収試験(7 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

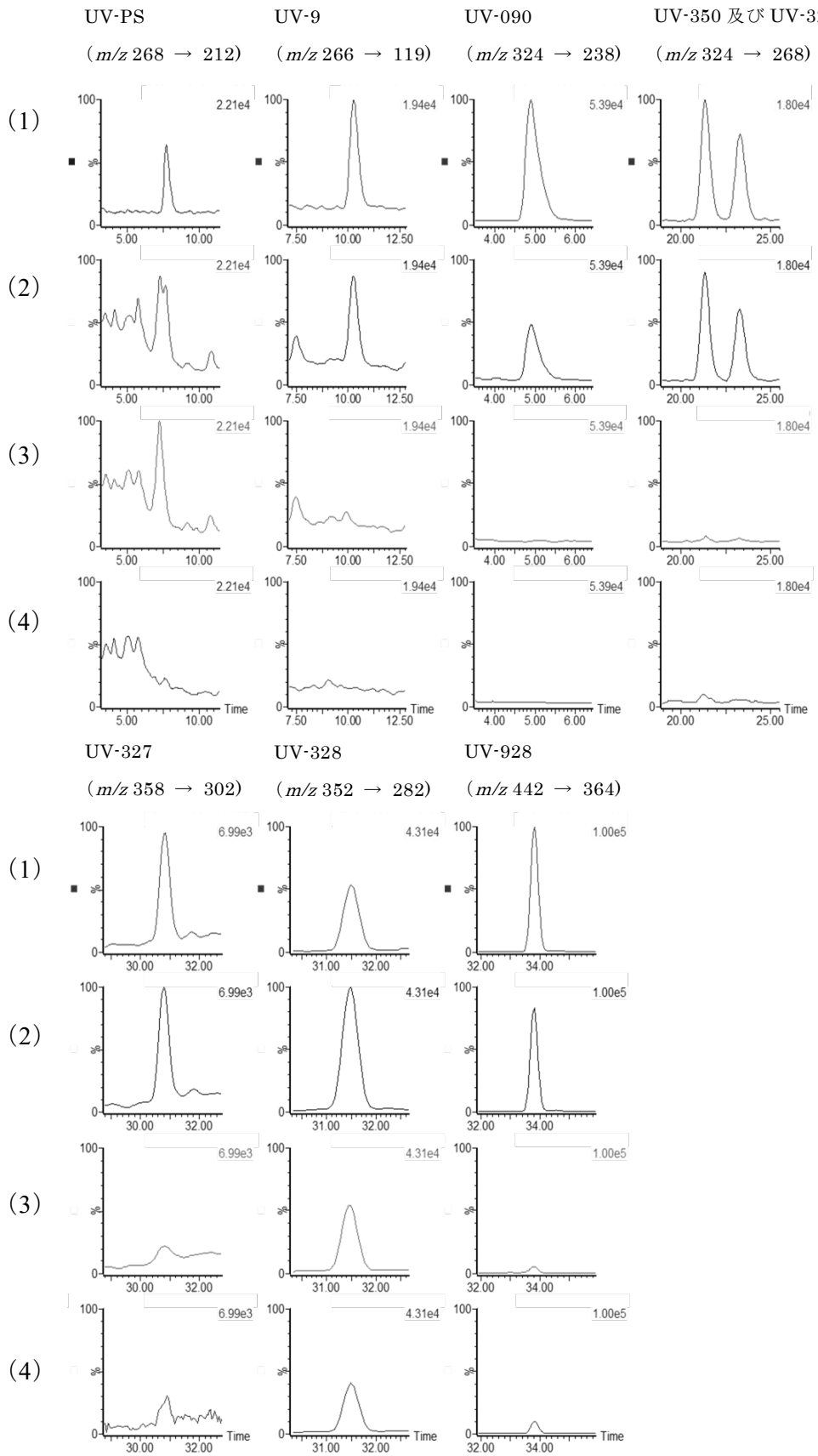


図 10-8　添加回収試験(8 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

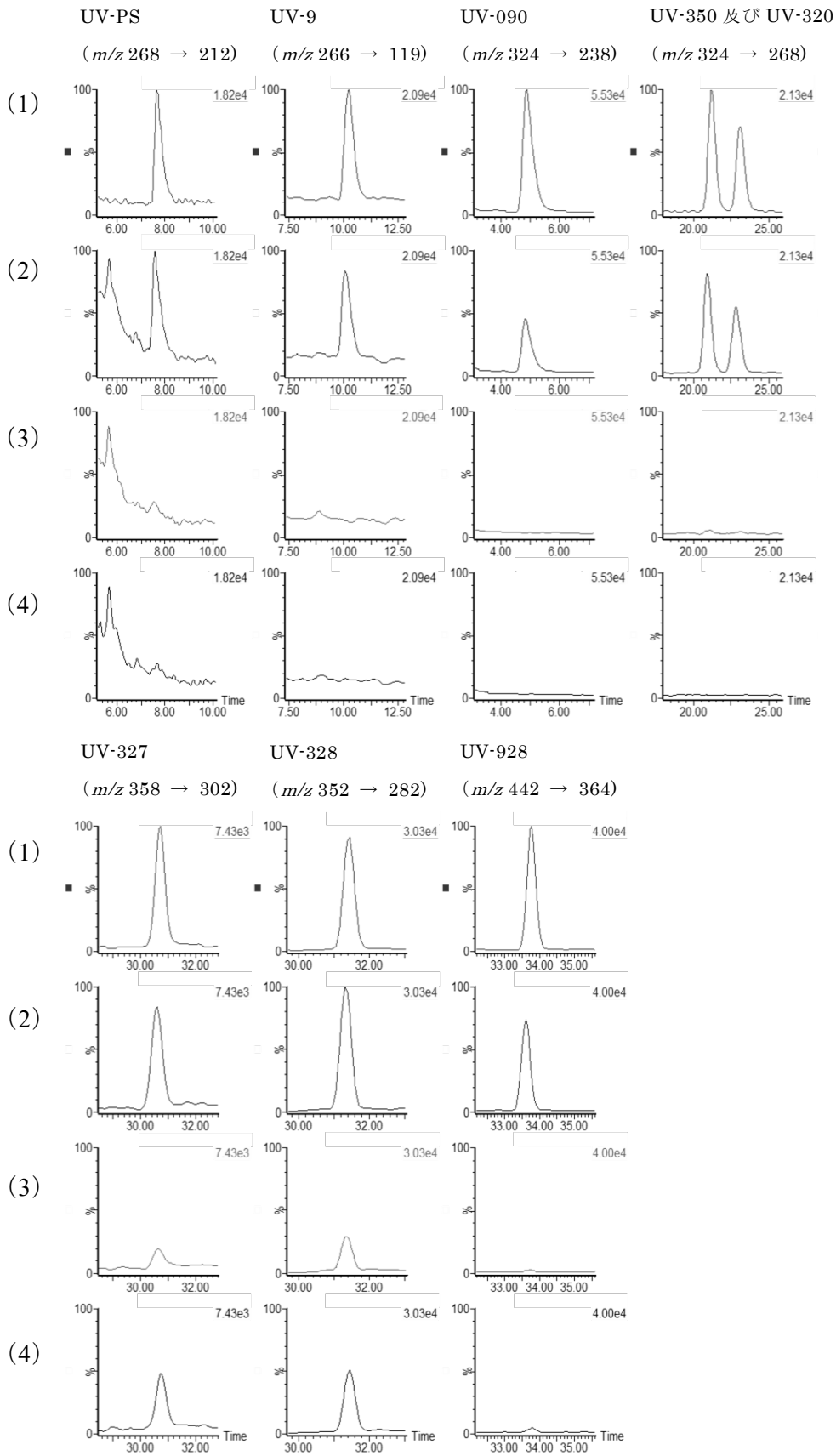


図 10-9　添加回収試験(9 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

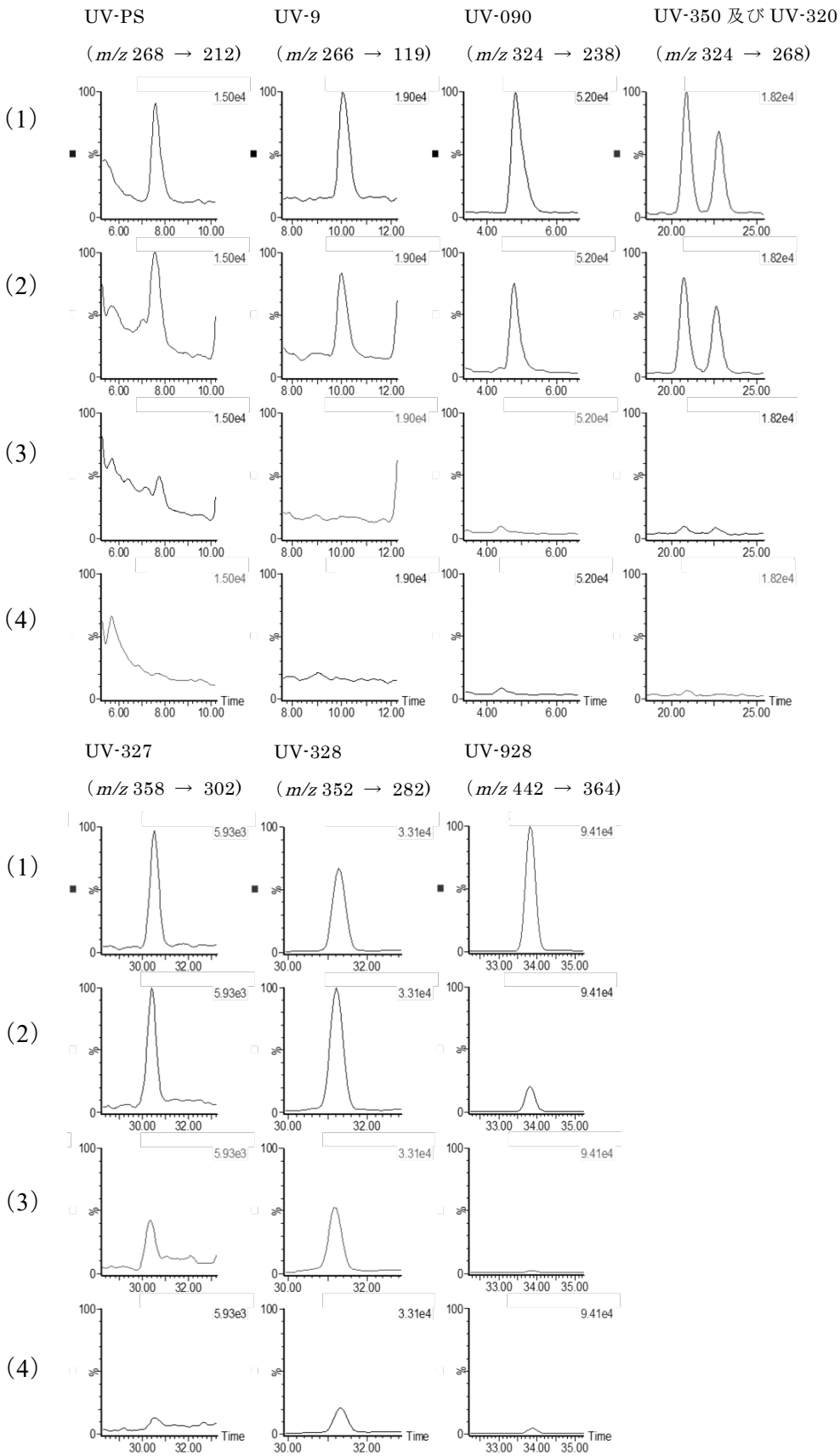


図 10-10　添加回収試験(10 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

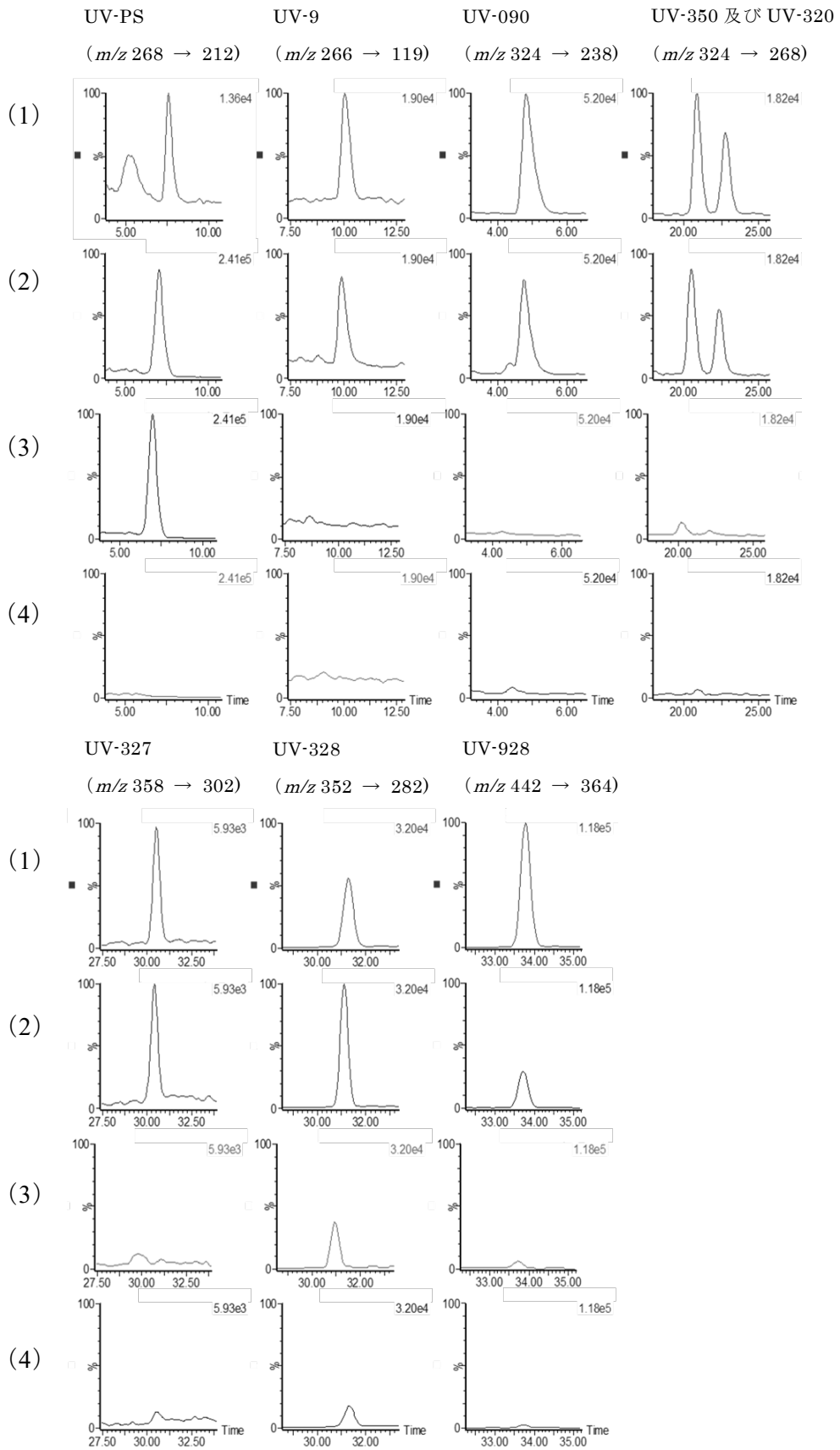


図 10-11　添加回収試験(11 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

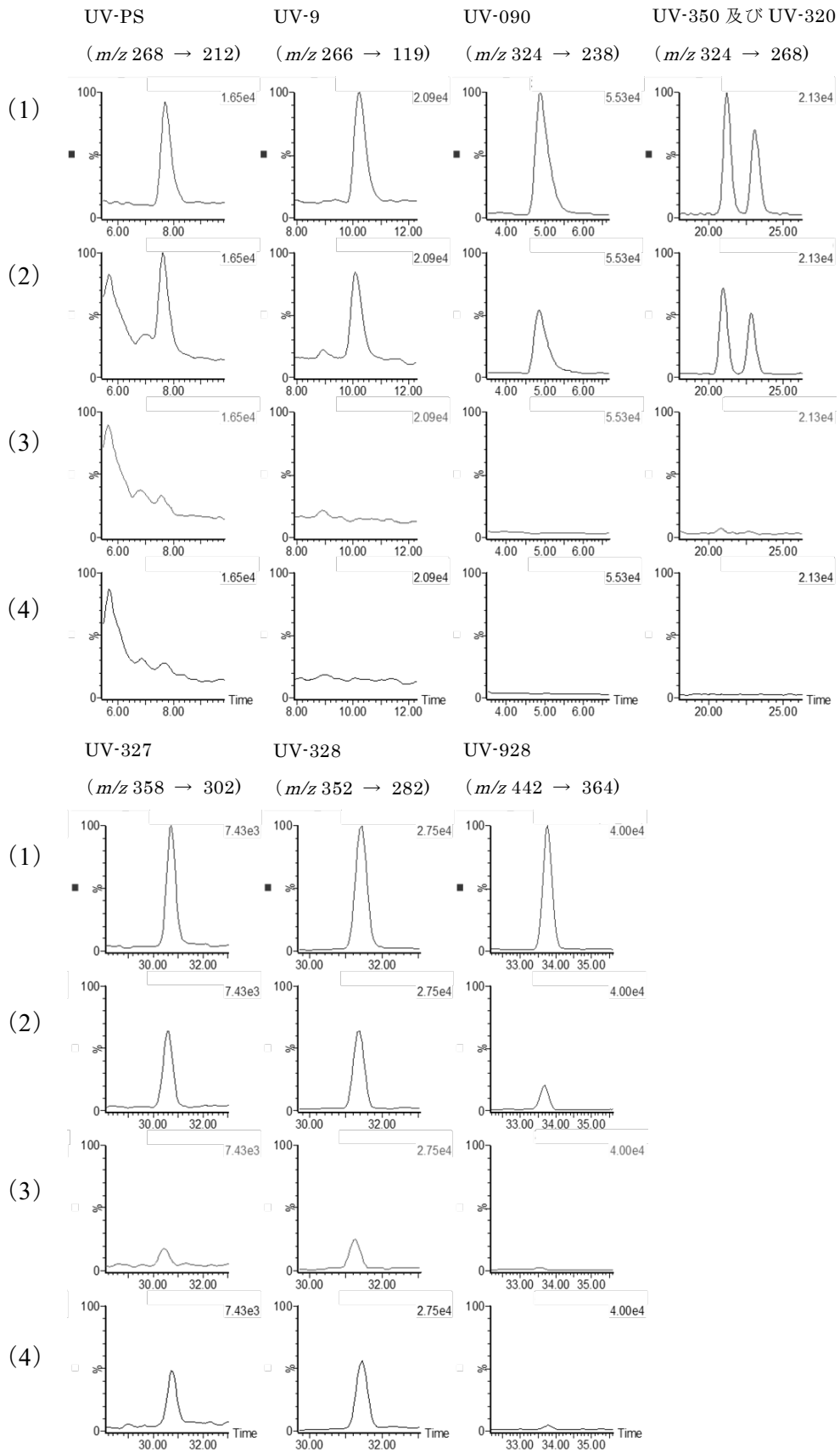


図 10-12　添加回収試験(12 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

(4)　操作ブランク

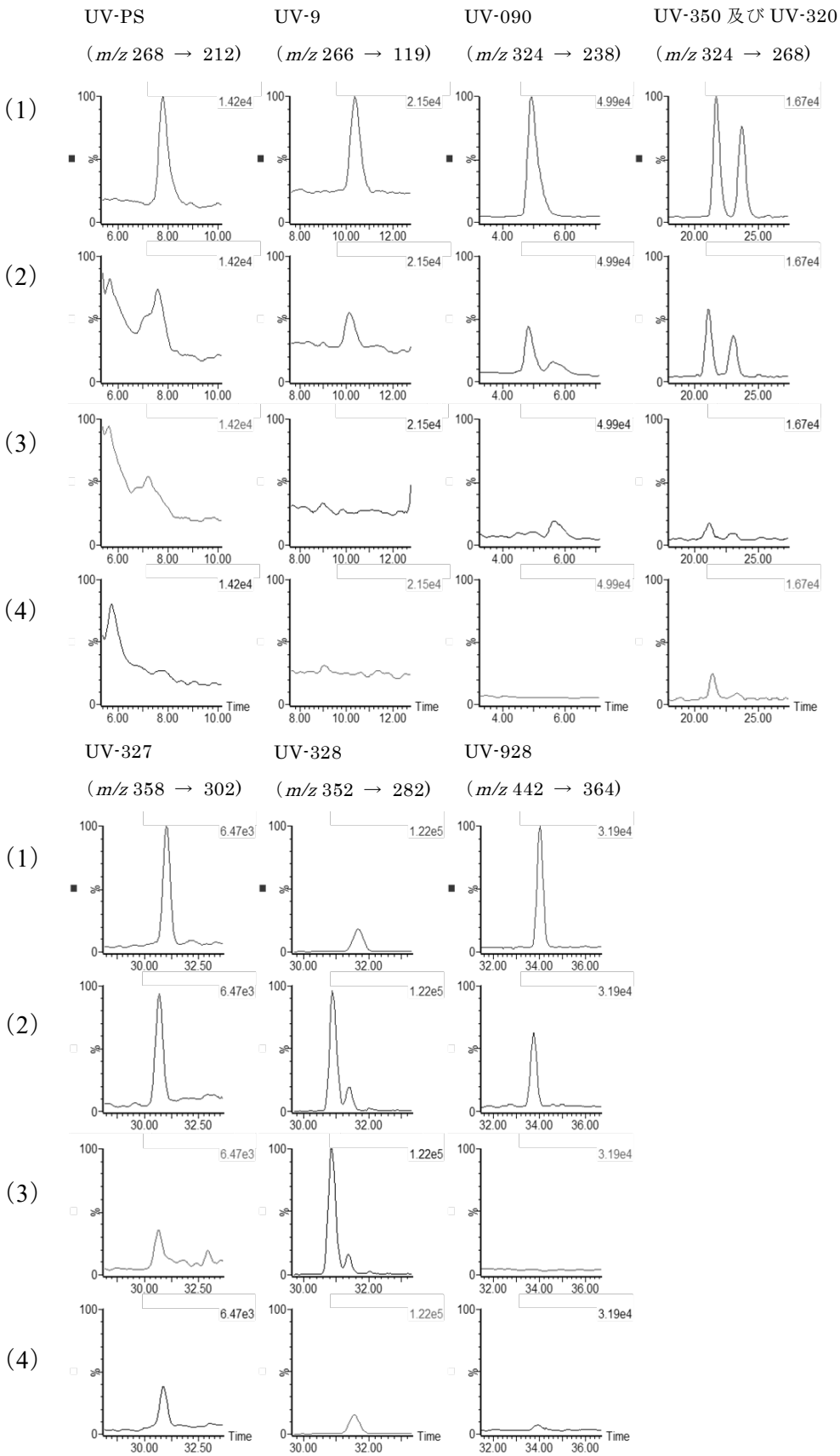


図 10-13　添加回収試験(13 群)における SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液(各 0.01 μg/L)

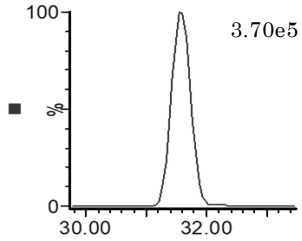
(2)　TD 添加回収試料(0.05 ng/g)

(3)　TD 未添加試料

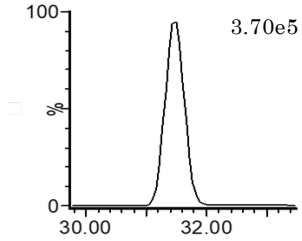
(4)　操作ブランク

UV-328（*m/z* 352 → 282）

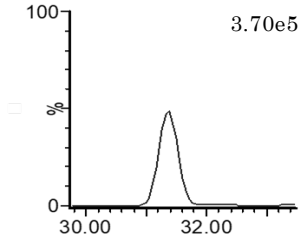
(1)



(2)



(3)



(4)

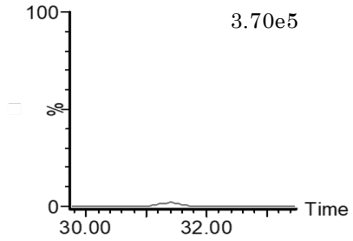


図 11　添加回収試験（7 群）における UV-328 の SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液（0.2 µg/L）
(2)　TD 添加回収試料（0.5 ng/g）
(3)　TD 未添加試料
(4)　操作ブランク

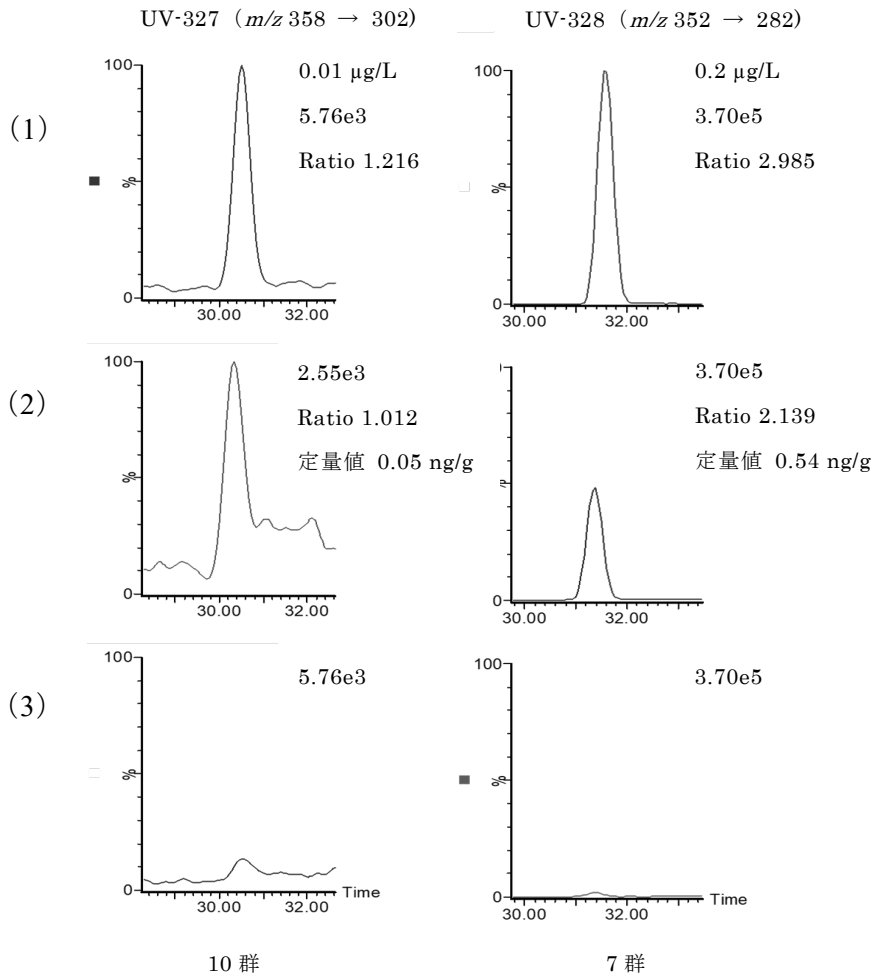


図 12-1 TD 試料の測定において検出となった UV-327（10 群）及び UV-328（7 群）の SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液
(2)　TD 試料
(3)　操作ブランク

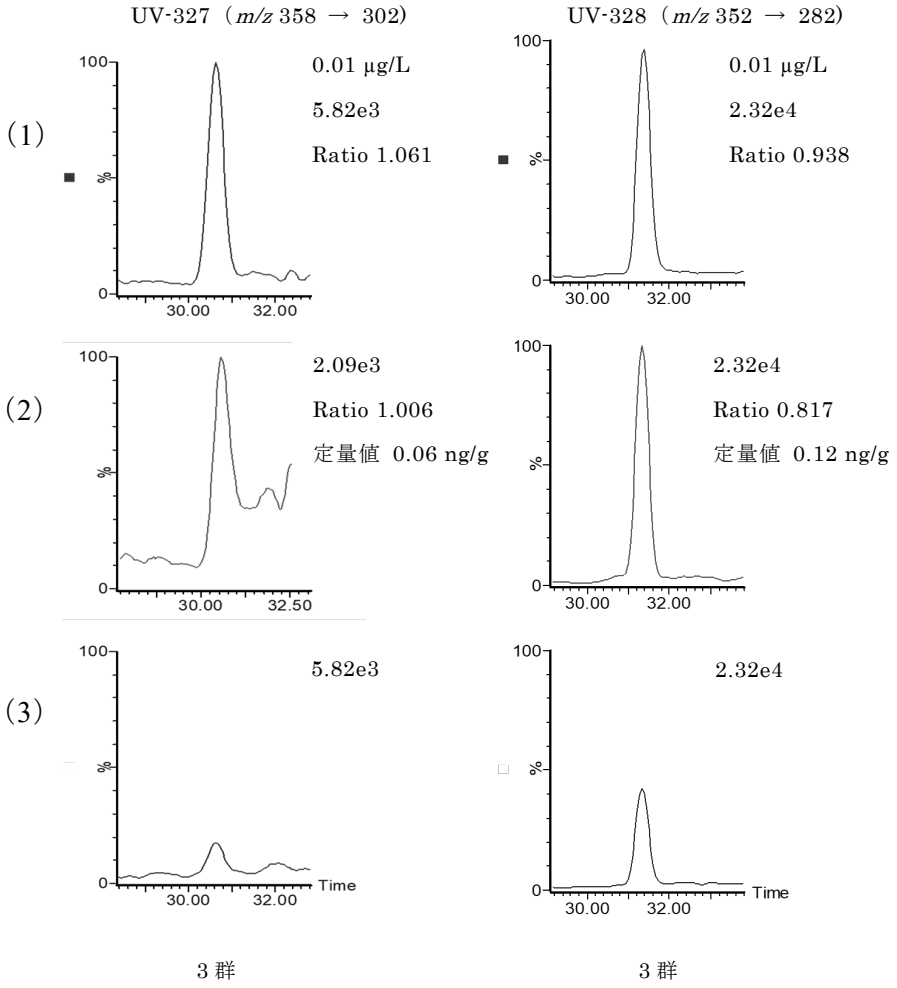


図 12-2 TD 試料の測定において検出（参考値）となった UV-327（3 群）及び UV-328（3 群）の SRM クロマトグラム

(1) 標準溶液

(2) TD 試料

(3) 操作ブランク

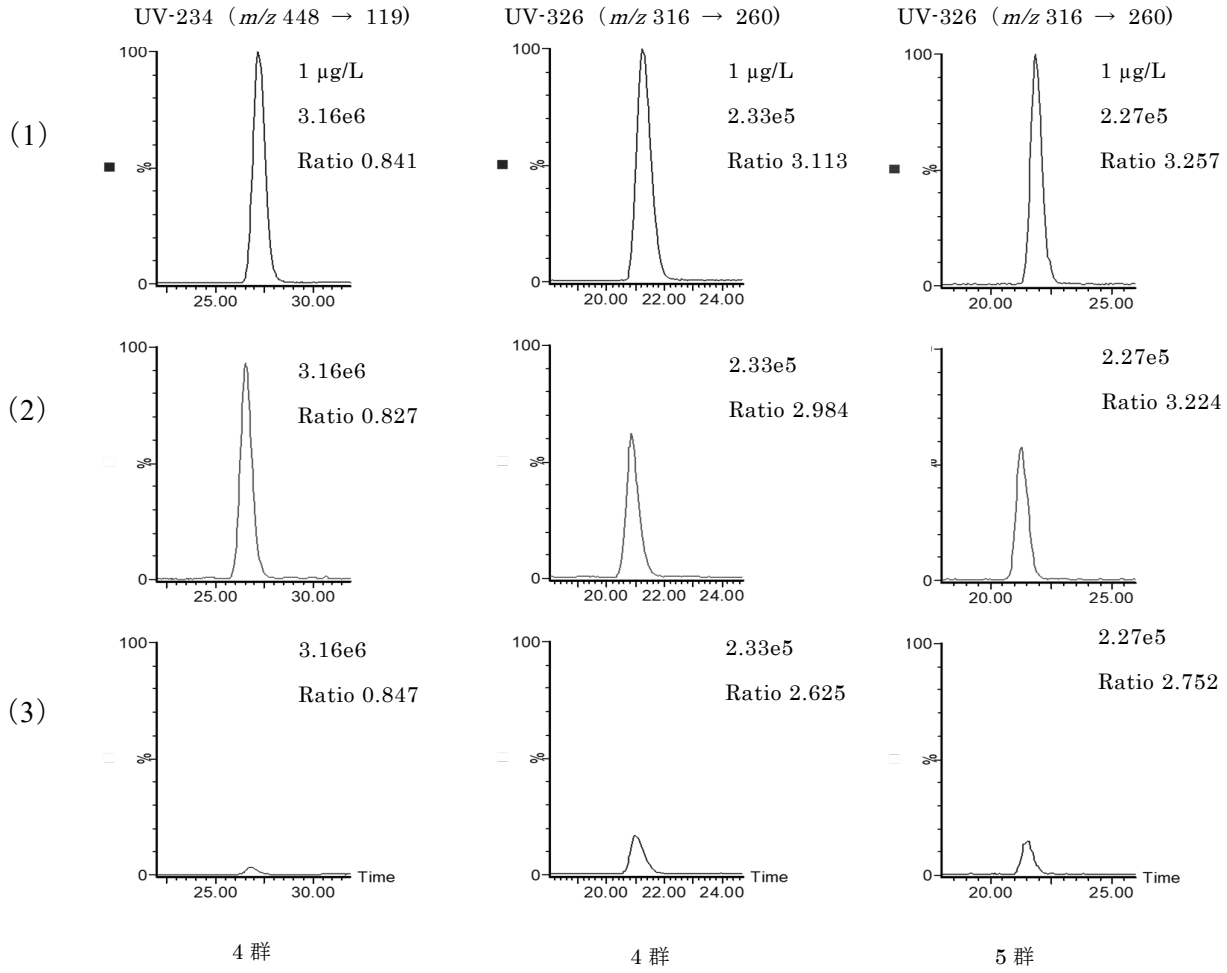


図 13　TD 試料における UV234（4 群）及び UV326（4 群及び 5 群）の SRM クロマトグラム

(1)　標準溶液

(2)　TD 試料

(3)　操作ブランク

Ⅱ．分担研究報告書

(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7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

(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。食品中の18種類のOPFRsの一斉分析法について、抽出および精製条件の最適化を行い、トータルダイエット（TD）試料への適用性を評価した。

まず、サーモンを用いて、アセトン：*n*-ヘキサン（1:1）混液を用いて食品試料からOPFRsを抽出し、ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）およびエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムにより精製後、LC-MS/MSにより測定する分析法を検討した。添加回収試験では、回収率が76.9～119.1%、相対標準偏差（RSD）が多くのOPFRsで10%未満（TEPのみ16.7%）と、良好な真度および精度が得られ、本法の有用性が確認された。

次に、TD-1～13群試料への適用性を評価するため、各群に対して添加回収試験を実施した。その結果、回収率は8群のTEHP（66.8%、RSD:6.8%）を除き70.2～119.9%（RSDは0.6～18.4%）であり、本法はTD試料に概ね良好に適用可能であると考えられた。ただし、無添加試料から高濃度で検出され、本試験では評価が困難であったOPFRsについては、添加濃度を引き上げた再評価が必要である。

ミネラルウォーターを用いてTD-14群の分析法を検討した。ジクロロメタンによる液液抽出法および*N*含有メタクリレート・スチレン・ジビニルベンゼンポリマー固相ミニカラムを用いた固相抽出法の分析性能を比較した結果、いずれの方法においても回収率および再現性は良好であった。固相抽出法は、有機溶媒の使用量が少なく操作も簡便であることから、より実用に適した分析法であると考えられた。

推定したOPFRsの検出下限値は、一部のOPFRsで操作ブランクの影響により高い値となったものの、TD調査において耐容一日摂取量（TDI）や暫定参照用量（p-RfD）との比較を行う上で、概ね適切な水準であると考えられた。

TD試料の分析では、4種類のOPFRs（TEP、TDCPP、EHDPhPおよびT4iPPhP）が検出下限値を超えて検出されたが、推定された摂取量はいずれもTDI等の値を下回っており、最大で11%であった。本研究の結果は一部地域の試料群に限定されており、特定の食品試料等に起因する可能性も考えられることから、今後さらなる調査が必要である。

研究協力者

福岡県保健環境研究所

佐藤 環、工藤愛透翔、飛石和大、中村麻子、新谷依子、堀 就英

A. 研究目的

難燃剤は、製品を燃えにくくする目的で添加される化学物質であり、プラスチック、ゴム、繊維など幅広い用途に使用されている。難燃剤は有機系と無機系に大別され、有機系にはハロゲン系およびリン系、無機系には金属水酸化物やアンチモン系などが含まれる。特にハロゲン系難燃剤は低コストかつ高い難燃効果を有することから広く使用されてきたが、その一部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、および長距離移動性が問題視されている。このため、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）」により規制が進められている。これを受け、近年では代替難燃剤の利用が拡大している。中でも、塩素および臭素を含まないリン酸エステル系難燃剤（Organo Phosphate Flame Retardants; OPFRs）は、比較的低毒性で環境負荷が小さいことから選択肢の一つとして利用されるようになった [1]。一方で、難燃剤の難燃性能向上を目的として塩素や臭素を部分的に導入したハロゲン含有リン酸エステル系難燃剤も存在し、用途に応じて使い分けられている。

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]など多様な環境媒体から検出されている。さらに、室内環境から精白米への吸着 [9]や母乳からの検出 [10]も報告されており、環境から食品への移行が懸念されている。一部の OPFRs については神経毒性、発がん性および遺伝毒性が示唆されており [11),12]、食事を介した曝露評価の重要性が高まっている。

令和 3 年度から令和 6 年度にかけて、18 種類の OPFRs の一斉分析法の構築を目的として分析法の検討を行った。食品中 OPFRs の前処理法として、アセトニトリル抽出・塩析法、ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）およびエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム精製を組み合わせて前処理を行い、測定にLC-MS/MSを用いる手法を確立した [13),14),15]。しかし、マーケットバスケット方式による摂取量推定を行うには、多様な夾雑成分を含む食品への適用性が求められる。特に油脂含量の高い食品では、抽出溶媒の違いにより回収率が大きく変動する可能性があるため、分析法の適用範囲の検証が重要であると考えられた。

そこで本年度は、より幅広い物性の OPFRs に対応可能な抽出溶媒への変更および GPC 条件の最適化を行い、トータルダイエット（TD）試料に対する本分析法の適用性について検証するため、添加回収試験および検出下限値の評価を実施した。

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(TPrP)、リン酸 2-エチルヘキシルジフェニル(EHDPhP)、リン酸トリス(2-メチルフェニル) (ToTP)、リン酸トリス(3-メチルフェニル) (TmTP)、リン酸トリス(4-メチルフェニル) (TpTP)、リン酸トリス（2-ブトキシエチル） (TBEP)、リン酸トリス(3,5-ジメチルフェニル) (T35DMPhP)、リン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル) (TDCPP)、リン酸トリス（2-エチルヘキシル) (TEHP)、リン酸トリス(2-イソプロピルフェニル) (T2iPPhP)、リン酸トリス(3-イソプロピルフェニル) (T3iPPhP)、リン酸トリス(4-イソプロピルフェニル) (T4iPPhP)、リン酸トリス（2,3-ジブロモプロピル) (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)-$^{13}C_6$ (TBEP-$^{13}C_6$)、リン酸トリフェニル-$^{13}C_{18}$ (TPhP-$^{13}C_{18}$)、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) -$^{13}C_{18}$ (T4iPPhP-$^{13}C_{18}$)の安定同位体ラベル化体を Cambridge Isotope Laboratories, Inc.より購入した。

リン酸トリス(2-エチルヘキシル)-d_{51} (TEHP-d_{51})標準品は林純薬工業株式会社より、リン酸トリス(2,3-ジブロモプロピル)-d_{15} (TDBPP-d_{15})標準品はトロントリサーチケミカル社より購入した。各標準品はトルエンを用いて 100 μg/mL の標準溶液を調製した。

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。この標準溶液をメタノールで希釈しシリンジスパイク・メタノール溶液(1 ng/mL)を調製した。

アクリナトリン標準品(残留農薬試験用、99.1 %)は Dr- Ehrenstorfer 社から購入した。アクリナトリンは、GPC における脂質画分の溶出挙動確認の指標として用いた。

1-2. 試薬及び器具

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)、無水硫酸ナトリウム(残留農薬・PCB 試験用)は関東化学(株)より購入した。ジクロロメタン(ダイオキシン類分析用)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、*N* 含有メタクリレート・スチレン・ジビニルベンゼンポリマー固相ミニカラムは InertSep GLASS PLS-3(200 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。

石英ウールは、東ソー(株)から購入した。

1-3. 試料

サーモン、ミネラルウォーターは福岡県内の小売店で購入した。サーモンは、ハンドブレンダー(MQ9145XS、ブラウン社製)を用いて細切均一化し、試料とした。なお、ミネラルウォーターは 14 群:飲料水の検討用試料として用いた。

令和6年度に調製したトータルダイエット(TD)試料は、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・栄養調査における地域別食品摂取量(1 歳以上)を項目ごとに平均し、各食品の地域別摂取量を算出したうえで作製した。福岡県の小売店から食品を購入し、北九州地域の摂取量に基づいて計量した。さらに、必要に応じて調理を行った後、食品群(全 13 食品群;1 群:米類、2 群:米以外の穀類・いも類・種実類、3 群:砂糖類・菓子類、4 群:油脂類、5 群:豆類、6 群:果実類、7 群:緑黄色野菜類、8 群:その他の野菜類・きのこ類・海藻類、9 群:嗜好飲料類、10 群:魚介類、11 群:肉類・卵類、12 群:乳類、13 群:調味料類)ごとに混合・均一化し、試料とした。

ミネラルウォーター(未開封)は常温で保管した。その他の試料は-20℃の冷凍庫で保管し、分析時に解凍して使用した。

2. 機器及び分析条件

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

ゲル浸透クロマトグラフは、島津製作所製の LC-20AD/SPD-20A を使用し、カラムオーブンはジーエルサイエンス社製の CO 903 を使用した。GPC 分析条件は表 3 に示した。

3. 試験溶液の調製

3-1. 試験溶液の調製(サーモン、TD-1～13 群)

試料約 10 g をガラス製遠沈管に正確に量り採り、クリーンアップスパイクを各 50 ng 添加した後、アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 50 mL を加えて 10,000 rpm で 2 分間ホモジナイズした。次いで、塩化ナトリウム 5 g を加えて 10,000 rpm で 1 分間ホモジナイズした後、3,000 rpm で 10 分間遠心分離を行った。上澄み液を回収し、残渣に約 20 mL のアセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液を加えて、同様に 1 分間ホモジナイズした後、遠心分離(3,000 rpm、10 分間)を行った。得られた上澄み液を合わせ、アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液で 100 mL に定容し、抽出液とした。

抽出液 2 mL を分取し、無水硫酸ナトリウム 1.5 g を充填したパスツールピペットに通液した。さらにアセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 2 mL で 3 回洗浄し、得られた溶液を窒素気流下で穏やかに溶媒除去した。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、GPC 試験溶液とした。

GPC 試験溶液 2 mL をサンプルループ方式により自動注入し、注入後 11～21 分の画分を分取した。これを減圧下で約 1 mL まで濃縮した後、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物をアセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 2 mL に溶解した。

InertSep PSA カラム(500 mg)にアセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 10 mL を通液してコンディショニングを行い、流出液は廃棄した。次いで、前述の溶液をカラムに全量負荷し、アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液 1 mL でナスフラスコを洗浄しながらカラムに負荷する操作を 2 回繰り返した。さらに同混液 5 mL で溶出し、得られた全溶出液を窒素気流下で穏やかに濃縮して溶媒を除去した。残留物をシリンジスパイク・メタノール溶液(1 ng/mL) 0.2 mL に溶解し、これを試験溶液とした。

3-2. 試験溶液の調製(TD-14 群、液液抽出法)

試料としてミネラルウォーターを用いた。試料 10 mL に、クリーンアップスパイクを各 50 ng 添加した後、ジクロロメタン 20 mL を加えて 5 分間振とう抽出を行った。ジクロロメタン層は無水硫酸ナトリウム 3 g で脱水しながら回収した。同様の操作を繰り返し、得られたジクロロメタン層を合わせた。さらに、無水硫酸ナトリウムを約 10 mL のジクロロメタンで洗浄し、その洗液をジクロロメタン層に合わせた。得られた溶液を減圧下で約 1 mL まで濃縮し、ジクロロメタンで洗い込みながら 10 mL スピッツ管に移した後、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物をシリンジスパイク・メタノール溶液(1 ng/mL)2 mL に溶解し、これを試験溶液とした。

3-3. 試験溶液の調製(TD-14 群、固相抽出法)

試料としてミネラルウォーターを用いた。試料 5 mL に、クリーンアップスパイクを各 25 ng 添加した後、InertSep Glass PLS-3(200 mg)に 5 mL/min で通水した。約 5 mL の蒸留水で洗浄した後、5 分間、マニホールドにより吸引して乾燥した。アセトン 10 mL で溶出した後、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物をシリンジスパイク・メタノール溶液(1 ng/mL)1 mL に溶解し、これを試験溶液とした。

3-4. 操作ブランク試験

試料を用いずに、3-1、3-2 及び 3-3 に従って試験溶液を調製した。

3-5. 添加回収試験

サーモン:試料約 10 g を量り採り、OPFRs 標準物質を各 250 ng を添加した後、3-1 に従って

試験溶液を調製した。

TD-1～13 群：試料約 10 g を量り採り、OPFRs 標準物質を各 50 ng を添加した後、3-1 に従って試験溶液を調製した。

TD-14 群（液液抽出法）：試料 10 mL に OPFRs 標準物質を各 50 ng を添加した後、3-2 に従って試験溶液を調製した。

TD-14 群（固相抽出法）：試料 5 mL に OPFRs 標準物質を各 25 ng を添加した後、3-3 に従って試験溶液を調製した。

3-6. OPFRs の測定

18 種の OPFRs および 8 種のクリーンアップスパイクについて、それぞれ混合標準溶液（アセトニトリル溶液）を調製した。OPFRs とクリーンアップスパイクの混合標準液を用い、シリンジスパイク・メタノール溶液（1 ng/mL）にて順次希釈して 0.1～10 ng/mL（TD-14 群の検討では 0.5～50 ng/mL）の範囲で 7 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、クリーンアップスパイクは 1 ng/mL（TD-14 群の検討では 25 ng/mL）となるように検量線用混合標準溶液に加えた。

3-7. 検出下限値

操作ブランクが認められた OPFRs については、操作ブランク（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。操作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。

3-8. 定量

定量は内部標準法により行った。対応する内部標準物質は表 2-2 に示した。

操作ブランクが認められた物質については、定量値から操作ブランク値を差し引いて試料中濃度を算出した。操作ブランク値を差し引いた結果、負値を示したものについては、検出下限値未満（<LOD）とした。

添加回収率は、無添加試料において検出が認められた場合、添加回収試料から無添加試料中の濃度を差し引いて算出した。なお、無添加試料中の濃度が添加量の約 20%以上検出される場合には、差し引きによる補正が困難であるため、評価不能とした。

C. 研究結果及び考察

1. GPC 精製における分取時間の検討

摂取量推定のために TD 試料を分析する際には、多様な夾雑成分を含む食品へ対応する必要がある。特に油脂を多く含む食品では、抽出溶媒の選択によって OPFRs の抽出効率が大きく変化する可能性があるため、分析法の適用性について十分な検証が求められる。

令和 6 年度までに検討した OPFRs の試験溶液調製法はアセトニトリルを用いた抽出法であるが、log Pow の大きい疎水性の OPFRs については抽出効率が低下する可能性が考えられた。

油脂を多く含む食品から幅広い物性の OPFRs を効率よく抽出するため、本研究ではアセトン：n-ヘキサン（1:1）混液を抽出溶媒として採用した。一方、この溶媒は他の溶媒と比較して、目的物質に加えて食品中の夾雑成分も同時に多く抽出する傾向があるため、精製工程の検討が必要となる。そこで、サーモン抽出液を用いて、GPC における脂質の溶出挙動を確認した。

アセトン：n-ヘキサン（1:1）混液により抽出したサーモン抽出液 20 mL（試料 2 g 相当）および 2 mL（試料 0.2 g 相当）を、それぞれアセトン：シクロヘキサン（2:8）混液 10 mL に転溶した溶液と、同溶媒で調製したアクリナトリン標準溶液（100 μg/mL）を GPC に注入したクロマトグラムを図 1 に示した。図に示すように、アクリナトリンの溶出直前である 9～11 分付近において大きなピークが観察され、脂質由来成分の溶出が示唆された。

また、昨年度の方法に従い、注入後 9～21 分の画分を分取し、InertSep PSA カラムによる精製後に溶媒を除去した後、残留物をメタノールに再溶解したところ、いずれの試料負荷量においても

不溶性成分が認められ、LC-MS/MS による測定は困難であると判断された。

これまでの検討から、分析対象物質の一つである TEHP の溶出は約 10～12 分であることが明らかとなっている。分取開始時間を 11 分以降とすることで夾雑成分の除去は可能と考えられるが、TEHP の回収率低下が懸念される。そこで、回収率の補正を目的として TEHP の安定同位体ラベル化体である TEHP-d_{51}をクリーンアップスパイクとして用いることとした。

TEHP-d_{51} の溶出挙動を確認するため、TEHP および TEHP-d_{51}を含む混合標準溶液を GPC に注入し、注入後 8～22 分の溶出液を 1 分間ごとに分画した。各画分は窒素気流下で濃縮し溶媒を除去した後、メタノール 1 mL に再溶解し、LC-MS/MS により測定した。得られた結果から各画分におけるピーク強度を評価した。図 2 に各画分における TEHP および TEHP-d_{51} のピーク強度（最大強度を 100%とした相対値）を示す。TEHP は 10～11 分の画分において最も高い溶出量を示した。11 分以降を分取する条件では TEHP の一部が前の画分に溶出し、回収率が低下する可能性が示唆された。一方で、図 2 に示すように、TEHP と TEHP-d_{51} は同様の溶出挙動を示したことから、内部標準法による定量が有効であることが確認された。また、分取時間を 11～21 分に変更して試験溶液を調製したところ、不溶性成分は認められなかった。

2. 添加回収試験

定量に用いた検量線の決定係数（R^2）は 0.990～0.999 の範囲にあり、良好な直線性が確認された。

各 OPFRs 標準溶液（5 ng/mL）における定量イオンの SRM クロマトグラムを図 3～図 16 の a)、サーモンの添加回収試料における各 OPFRs の定量イオンの SRM クロマトグラムを図 3～16 の b)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。

サーモンにおける OPFRs の添加回収試験の結果（n=5）を表 4 に示した。本分析法における OPFRs の回収率は 76.9～119.1%の範囲にあり、相対標準偏差（RSD%）も多くの化合物で 10%未満（TEP のみ 16.7%）と良好であったことから、真度および精度は概ね良好であると評価された。

クリーンアップスパイクについては、TEHP-d_{51} を除く化合物で 42.9～103.7%の回収率および 10.2%以下の良好な再現性が得られ、「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）[16]に示される目標値（40～120%）を満足した。

TEHP-d_{51} は GPC 精製における損失の影響を受け低い回収率を示したが、補正後の TEHP の回収率および精度は良好であったことから、本分析条件下においてクリーンアップスパイクとして有用であると考えられた。

表 5 に各食品群（1～13 群）における添加回収試験の結果（n=5）を示した。各 OPFRs の回収率は、8 群の TEHP（66.8%）を除き 70.2～119.9%の範囲にあり、RSD%は 0.6～18.4%であった。8 群の TEHP はやや低い回収率を示したものの、RSD%は 6.8%と良好であった。

クリーンアップスパイクについては、TEHP-d_{51} および 9 群の TEP-d_{15} を除き 40.3～118.6%でありガイドラインの目標値の範囲内であった。

TEP-d_{15} は 9 群を除いて 44.6～71.7%、TCEP-d_{12} は 40.3～73.6%の回収率を示し、目標値（40～120%）を満足しているが、他の化合物と比較してやや低い傾向が認められた。これは、TEP や TCEP が高極性の化合物であるため、抽出効率が相対的に低いことが考えられた。

また、TEHP-d_{51} は GPC 精製における損失の影響を受け低い回収率を示したが、補正後の TEHP の回収率はサーモンと同様に概ね良好であり、クリーンアップスパイクとしての有用性が確認された。

なお、今回、無添加試料から比較的高濃度で検出され、本試験で評価不能であった 7 種類の OPFRs（表 5 で N/A と表示）については、添加濃

度を引き上げて再評価を行う必要がある。

14 群の分析法（液液抽出法および固相抽出法）について、ミネラルウォーターを用いた添加回収試験により検討した。各抽出法における添加回収試験結果（n=5）を表 6 に示した。ジクロロメタンを用いた液液抽出法における回収率は 90.6～105.8%（RSD は 1.1～6.8%）であった。一方、InertSep Glass PLS-3 を用いた固相抽出法[17]における回収率は 91.3～112.4%（RSD は 0.8～5.2%）であった。いずれの分析法においても、良好な真度および精度が確認された。溶媒の種類や分析操作の工程を考慮すると、固相抽出法は有機溶媒の使用量が少なく、安全性および環境負荷の低減が期待できることに加え、操作が簡便であることから、より実用に適した方法であると考えられた。各 OPFRs 標準溶液（25 ng/mL）の定量イオンの SRM クロマトグラムを図 3～図 16 の d)、ミネラルウォーターの添加回収試料（固相抽出法）の各 OPFRs の定量イオンの SRM クロマトグラムを図 3～16 の e)に示した。妨害ピークは認められず良好なクロマトグラムが得られた。

3. 検出下限値

TD-1～13 群の分析について、操作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 3～16 の c)に示した。TD-1～13 群の分析における操作ブランク試験溶液から TEP、TCEP、TCPP、TDCPP、TPhP、TBP、TBEP、EHDPhP、T2iPPhP および TEHP を検出した。

TD-14 群の分析（固相抽出法）について、操作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 3～16 の f)に示した。TD-14 群の分析における操作ブランク試験溶液から、TEP、TCEP、TPhP、TBP、TBEP および T4iPPhP を検出した。

推定した OPFRs の検出下限値を表 7 に示した。TD-1～13 群の分析においては、操作ブランク値のばらつきが比較的大きい OPFRs が認められたため、これらの検出下限が高くなる傾向がみられた。

また、耐容一日摂取量（TDI）や暫定参照用量（p-RfD）が示されている OPFRs[18),19)]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 8）。試算された摂取量は、TCEP で TDI の 11%に相当する量が認められたものの、全体として TDI 等を大きく下回った。以上のことから、少なくともこれらの OPFRs については、TD 調査において TDI 等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。

4. 試料の分析

TD-1 群～13 群、サーモン、ミネラルウォーターを分析した分析結果を表 9 に示した。

対象とした OPFRs の多くが検出下限未満（<LOD）であった。一方で、TEP が TD-5 群から、TDCPP が TD-3 群、TD-6 群、TD-7 群および TD-13 群から、EHDPhP が TD-4 群から、T4iPPhP が TD-3 群、TD-4 群および TD-13 群から検出された。TEP、TDCPP および EHDPhP は、様々な食品からの検出事例が報告されている[20)]。また、OPFRs は食品包装材料などに添加剤として使用されていることから、包装材から食品への移行が起こり得ることが指摘されている[21)]。

一方、T4iPPhP は室内ダストや堆積物などの環境試料から検出された報告があり、環境中に広く分布していることが示唆されている[22)]。

以上のことから、OPFRs は食品包装材料や環境媒体を介して外部環境から食品へ移行している可能性が示唆された。

また、今回分析した OPFRs 濃度を用いて、摂取量を試算した結果を表 10 に示した。検出下限値未満の OPFRs については検出下限値の当該物質が含まれているものと仮定して摂取量を試算した。また、添加回収試験で評価ができなかった OPFRs についても検出された場合はその値を用いて摂取量を試算した。その結果、摂取量は 16～125,784 ng/person/day（体重 50 kg で除した場合、0.0000003～0.003 mg/kg bw/day）と推

定された。TDI やp-RfD が示されている物質について比較を行ったところ最大で 11%となった。

本研究の結果は一部地域の試料群に限定されており、特定の食品等に起因する可能性も考えられることから、今後さらなる調査が必要である。

D. 結論

本研究では、食品中 OPFRs の一斉分析法について、抽出・精製法の最適化を行い、TD 試料への適用性を評価した。

アセトン:*n*-ヘキサン(1:1)混液を用いた抽出および GPC 精製における分取時間を 11～21 分とする条件により、不溶性成分が生じることなく、良好な試験溶液の調製が可能となった。

サーモンを用いた添加回収試験では回収率が 76.9～119.1％の範囲にあり、相対標準偏差(RSD%)も多くの化合物で 10%未満(TEP のみ 16.7%)と良好な真度および精度が得られ、本法の有用性が確認された。

TD 試料への適用性を評価するため、TD-1～13 群に対する添加回収試験を行ったところ、8 群の TEHP(66.8%)を除き 70.2～119.9%の範囲にあり、RSD%は 0.6～18.4%であり、本法は TD 試料に概ね良好に適用可能であると考えられた。ただし、無添加試料から比較的高濃度で検出され、本試験では評価が困難であった OPFRs については、添加濃度を引き上げた再評価が必要である。

ミネラルウォーターを用いて TD-14 群の分析法について、検討を行った。液液抽出法および固相抽出法の分析性能を比較した結果、いずれの方法においても回収率および再現性は良好であった。特に固相抽出法は、有機溶媒使用量が少なく操作も簡便であることから、より実用に適した前処理法であると考えられた。

推定した検出下限値は一部操作ブランクの影響により比較的高い OPFRs もあったものの、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。

TD 試料の分析では 4 種類の OPFRs が検出下限値を超えて検出された。TDI 等が示されている物質について、推定した摂取量と比較を行ったところ、いずれも TDI 等の値を下回っており、最大でも TDI 等の 11%であった。本研究の結果は一部の地域の試料群に限定されているため、特定の食品等に起因する可能性も考えられることから、今後さらなる調査が必要である。

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. Chemophere(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.

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) 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)

16) 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.

17) 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、栫拓也、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.

18) 日本難燃剤協会 リン部会「リン酸エステル系難燃剤・可塑剤のヒト健康リスク評価に関する報告書」、平成 18 年 3 月 6 日

19) U.S. Environmental Protection Agency, Provisional Peer Reviewed Toxicity Values for Tris(2-ethylhexyl)phosphate (2002)

20) Juanhua Li, Luming Zhao, Robert J.Letcher, Yayun Zhang, Kang Jian, Jinhua Zhang, Guanyong Su, A review on organophosphate ester (OPE) flame retardants and plasticizers in foodstuffs: Levels, distribution, human dietary exposure, and future directions. Environment International (2019) 127, 35-51.

21) Xiwei Chen, Xinhan Liang, Junyu Yang, Yinqian Yuan, Qinru Xiao, Zhanpeng Su, Yanhao Chen, Shaoyou Lu, Lei Wang, High-

resolution mass spectrometry-based screening and dietary intake assessment of organophosphate esters in foodstuffs from South China. Science of The Total Environment (2023) 905, 167169.
22) Ji Yang, Yiming Yao, Xiaoxiao Li, Ana He, Shijie Chen, Yulong Wang, Xiaoyu Dong, Hao Chen, Yu Wang, Hongwen Sun, Nontarget Identification of Novel Organophosphorus Flame Retardants and Plasticizers in Indoor Air and Dust from Multiple Microenvironments in China. Environmental Science & Technology (2024) 58(18), 7986-7997.

F.研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 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(3). 第 121 回日本食品衛生学会学術講演会 (2025.10)

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	$C_6H_{15}O_4P$	0.80	182.0708
Tripropyl phosphate	TPrP	513-08-6	$C_9H_{21}O_4P$	1.87	224.1178
Tributyl phosphate	TBP	126-73-8	$C_{12}H_{27}O_4P$	4.00	266.1647
Tris(2-chloroethyl) phosphate	TCEP	115-96-8	$C_6H_{12}Cl_3O_4P$	1.44	283.9539
Tris(1-chloro-2-propanyl) phosphate	TCPP	13674-84-5	$C_9H_{18}Cl_3O_4P$	2.59	326.0008
Triphenyl phosphate	TPhP	115-86-6	$C_{18}H_{15}O_4P$	4.59	326.0708
2-ethylhexyl diphenyl phosphate	EHDPhP	1241-94-7	$C_{20}H_{27}O_4P$	5.73	362.1647
Tris(2-methylphenyl) phosphate	ToTP	78-30-8		5.11	
Tris(3-methylphenyl) phosphate	TmTP	563-04-2	$C_{21}H_{21}O_4P$	6.34	368.1177
Tris(4-methylphenyl) phosphate	TpTP	78-32-0		6.34	
Tris(2-butoxyethyl)phosphate	TBEP	78-51-3	$C_{18}H_{39}O_7P$	3.75	398.4718
Tris(3,5-dimethylphenyl)phosphate	T35DMPhP	25155-23-1	$C_{24}H_{27}O_4P$	7.98	410.1647
Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate	TDCPP	13674-87-8	$C_9H_{15}Cl_6O_4P$	3.65	427.8839
Tris(2-ethylhexyl)phosphate	TEHP	78-42-2	$C_{24}H_{51}O_4P$	9.49	434.3525
Tris(2-isopropylphenyl)phosphate	T2iPPhP	64532-95-2		9.07	
Tris(3-isopropylphenyl)phosphate	T3iPPhP	72668-27-0	$C_{27}H_{33}O_4P$	8.30	452.2116
Tris(4-isopropylphenyl)phosphate	T4iPPhP	26967-76-0		7.40	
Tris(2,3-dibromopropyl)phosphate	TDBPP	126-72-7	$C_9H_{15}Br_6O_4P$	4.29	691.5807

表 2-1 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 ℃
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 ℃
Capillary voltage	3.0 kV

表 2-2 SRM 条件(LC-MS/MS)

Target compounds	Retention time (min)	Cone Voltage (V)	Transition *m/z*	Collision energy (eV)	Surrogate
TEP	1.7	16	183.2>127.0 183.2>98.9 183.2>155.0	12 16 8	TEP-d_{15}
TCEP	1.9	32	285.0>98.9 285.0>160.8 285.0>222.9	24 18 14	TCEP-d_{12}
TCPP	3.6	4	327.0>98.9 327.0>174.9 327.0>80.8	24 14 58	TPrP-d_{21}
TPrP	3.6	22	225.3>98.9 225.3>140.9 225.3>183.0	18 10 8	TPrP-d_{21}
TDCPP	7.2	40	431.0>99.0 431.0>209.1 431.0>321.1	26 14 12	TDCPP-d_{15}
TPhP	7.5	36	327.0>152.0 327.0>251.0 327.0>214.9	32 28 26	TPhP-$^{13}C_{18}$
TDBPP	10.1	50	698.5>99.0 698.5>299.0 698.5>200.9	34 20 38	TDBPP-d_{15}
TBP	12.2	30	267.1>98.8 267.1>154.9 267.1>211.0	18 10 8	TBP-d_{27}
TBEP	17.1	34	399.3>199.0 399.3>142.9 399.3>82.9	16 18 18	TBEP-$^{13}C_6$
ToTP	24.2	46	369.2>165.0 369.2>90.9 369.2>166.0	44 34 44	TBEP-$^{13}C_6$
TmTP	25.4	24	369.2>165.1 369.2>90.9 369.2>243.0	42 34 28	TBEP-$^{13}C_6$
TpTP	25.8	70	369.2>165.0 369.2>90.9 369.2>243.0	44 42 28	TBEP-$^{13}C_6$
EHDPhP	28.1	22	363.2>251.0 363.2>152.8 363.2>214.9	14 32 34	TBEP-$^{13}C_6$
T35DMPhP	31.3	76	411.3>194.0 411.3>179.0 411.3>105.0	28 40 34	T4iPPhP-$^{13}C_{18}$
T2iPPhP	31.8	54	453.2>327.1 453.2>369.3 453.2>411.3	28 20 16	T4iPPhP-$^{13}C_{18}$
T3iPPhP	32.6	70	453.2>327.1 453.2>369.3 453.2>411.3	34 26 22	T4iPPhP-$^{13}C_{18}$
T4iPPhP	32.9	76	453.2>327.1 453.2>369.3 453.2>411.3	32 26 22	T4iPPhP-$^{13}C_{18}$
TEHP	35.2	26	435.4>98.8 435.4>71.0 435.4>211.0	12 12 8	TEHP-d_{51}

表 2-2 SRM 条件（LC-MS/MS）（つづき）

Labeled target compounds	Retention time (min)	Cone Voltage (V)	Transition *m/z*	Collision energy (eV)	
TEP-d_{15}	1.7	26	198.2>102.0 198.2>134.1	16 12	Cleanup spike
TCEP-d_{12}	1.8	32	297.1>102.0 297.1>130.1	30 14	Cleanup spike
TPrP-d_{21}	3.4	22	246.3>102.0 246.3>150.1	18 12	Cleanup spike
TDCPP-d_{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
TDBPP-d_{15}	10.0	48	713.6>101.7 713.6>305.6	28 18	Cleanup spike
TBP-d_{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
TEHP-d_{51}	35.1	22	486.4>101.9 486.4>358.2	26 16	Cleanup spike
TPhP-d_{15}	7.1	44	342.2>81.9 342.2>175.9	40 38	Syringe spike

表 3 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 4 サーモンにおける添加回収試験結果

Compound	Recovery (%)	RSD (%)
TEP	115.8	16.7
TCEP	77.9	7.5
TPrP	100.5	1.7
TCPP	99.1	7.3
TDCPP	95.2	5.0
TPhP	94.1	3.0
TDBPP	94.6	1.5
TBP	100.9	3.2
TBEP	83.4	6.3
ToTP	89.8	4.7
TmTP	89.3	1.9
TpTP	83.7	3.9
EHDPhP	84.2	3.1
T35DMPhP	119.1	6.6
T2iPPhP	109.3	7.6
T3iPPhP	76.9	9.6
T4iPPhP	95.9	3.0
TEHP	104.9	5.6
Surrogate	**Recovery (%)**	**RSD (%)**
TEP-d_{15}	67.4	4.6
TPrP-d_{21}	92.7	2.7
TCEP-d_{12}	63.4	5.3
TDCPP-d_{15}	92.2	1.8
$^{13}C_{18}$-TPhP	95.1	1.6
TDBPP-d_{15}	103.7	2.6
TBP-d_{27}	99.4	4.0
$^{13}C_{6}$-TBEP	97.6	3.6
$^{13}C_{18}$-T4iPPhP	42.9	10.2
TEHP-d_{51}	11.7	51.7

Spiked at 25 ng/g; surrogate standards were added at 5 ng/g (n = 5).

表 5 TD-1～TD-13 試料における添加回収試験結果

Compound	TD-1		TD-2		TD-3		TD-4		TD-5		TD-6		TD-7	
	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%
TEP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TCEP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TPrP	105.5	0.7	104.2	5.0	104.8	2.7	99.0	3.3	109.0	2.0	106.4	2.8	104.7	2.5
TCPP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TDCPP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TPhP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TDBPP	108.5	4.0	103.7	5.1	100.1	4.0	95.8	1.4	108.9	2.5	105.9	5.1	105.4	3.3
TBP	N/A	N/A	117.0	10.0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TBEP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
ToTP	102.4	5.5	98.4	1.8	71.0	3.8	94.5	4.4	91.7	2.2	95.5	3.8	96.3	2.2
TmTP	108.5	6.1	107.9	9.0	76.4	5.0	104.9	2.3	93.7	3.2	103.1	3.3	103.3	3.8
TpTP	97.5	6.3	90.7	10.6	72.0	3.5	75.8	3.8	99.6	4.2	91.7	3.9	104.0	6.7
EHDPhP	102.6	9.0	101.0	5.7	70.2	7.3	88.1	4.6	99.7	5.9	100.6	8.1	87.3	7.1
T35DMPhP	93.8	4.1	99.2	2.2	94.8	4.6	103.9	11.3	109.0	3.9	96.4	2.9	93.0	2.4
T2iPPhP	91.7	9.6	89.4	5.7	77.1	1.0	88.6	10.2	92.2	3.3	77.7	3.2	84.9	4.7
T3iPPhP	91.8	7.6	85.2	4.8	101.3	4.1	74.2	4.8	91.7	2.8	96.0	2.2	91.7	1.6
T4iPPhP	102.7	2.6	107.3	2.6	101.1	1.6	92.5	3.7	107.5	2.5	102.1	3.1	106.7	4.0
TEHP	74.3	18.4	104.3	9.9	109.8	5.5	78.0	12.8	73.6	16.5	76.3	12.2	96.7	4.2

Surrogate	TD-1		TD-2		TD-3		TD-4		TD-5		TD-6		TD-7	
	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%
TEP-d_{15}	44.6	14.7	55.5	12.0	53.8	6.2	65.7	3.4	52.9	9.6	49.8	11.6	61.8	8.7
TPrP-d_{21}	84.1	5.6	80.3	1.7	85.0	3.4	89.5	2.2	87.2	2.5	80.9	3.9	81.6	3.8
TCEP-d_{12}	40.3	31.1	73.6	7.3	65.2	6.9	54.4	4.0	49.6	3.0	49.4	19.0	70.0	8.8
TDCPP-d_{15}	82.7	4.7	90.8	4.1	88.8	2.2	94.0	2.4	85.4	1.1	90.9	4.1	90.7	2.2
$^{13}C_{18}$-TPhP	88.6	2.3	93.2	3.9	93.4	1.0	100.6	0.8	90.3	1.5	94.0	3.8	93.7	4.2
TDBPP-d_{15}	87.6	5.6	95.5	3.4	90.9	1.6	96.9	3.4	82.2	1.3	94.5	3.3	94.4	2.9
TBP-d_{27}	92.4	5.1	92.8	3.3	97.1	1.2	95.6	2.4	92.5	2.0	98.1	4.2	94.0	2.4
$^{13}C_6$-TBEP	92.8	5.8	95.5	4.8	116.4	3.3	91.4	1.4	91.4	2.8	102.0	6.4	98.6	2.9
$^{13}C_{18}$-T4iPPhP	95.9	3.6	87.7	5.2	70.9	1.6	60.2	10.5	59.4	2.4	94.4	5.0	90.8	4.8
TEHP-d_{51}	38.0	6.4	36.0	12.0	39.8	6.2	15.4	18.3	15.5	14.0	38.1	9.9	37.2	5.3

Spiked at 5 ng/g; surrogate standards were added at 5 ng/g (n = 5)

N/A: Detected at a relatively high concentration in the unspiked sample.

表 5 TD-1～TD-13 試料における添加回収試験結果（つづき）

Compound	TD-8		TD-9		TD-10		TD-11		TD-12		TD-13	
	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%
TEP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TCEP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TPrP	107.8	1.3	103.8	1.4	114.2	2.9	113.4	4.5	104.6	2.7	104.8	1.3
TCPP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TDCPP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	110.7	1.6	N/A	N/A	N/A	N/A
TPhP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TDBPP	110.3	1.4	102.5	3.1	106.3	3.9	105.9	2.1	104.4	4.3	118.2	2.8
TBP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TBEP	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
ToTP	88.9	5.2	100.9	1.6	88.3	7.0	84.5	1.5	100.3	4.4	71.6	3.1
TmTP	93.9	4.9	118.8	0.8	95.7	7.0	95.6	3.1	119.9	9.1	72.5	16.9
TpTP	97.4	3.6	115.4	2.2	89.4	9.4	82.6	6.8	115.6	5.4	70.6	5.9
EHDPhP	94.5	2.5	94.8	5.7	75.6	9.2	72.7	1.6	93.1	8.5	71.1	8.1
T35DMPhP	117.9	4.2	102.1	4.8	109.4	6.2	118.6	2.3	109.4	2.5	90.9	3.1
T2iPPhP	89.0	5.3	97.3	4.0	102.3	3.7	118.3	0.8	87.2	4.4	72.4	2.1
T3iPPhP	83.7	8.3	98.4	4.3	102.5	4.5	108.9	4.8	90.5	2.9	100.8	3.5
T4iPPhP	105.4	3.7	103.1	2.8	103.9	1.6	106.5	3.8	104.7	5.8	101.9	2.1
TEHP	66.8	6.8	79.5	8.5	113.8	6.8	115.1	5.3	86.5	8.8	91.4	2.1

Surrogate	TD-8		TD-9		TD-10		TD-11		TD-12		TD-13	
	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)	RSD%
TEP-d_{15}	71.7	7.0	33.0	4.6	56.4	4.7	48.4	10.3	45.4	16.2	55.6	16.7
TPrP-d_{21}	94.9	3.9	71.3	5.2	79.2	1.6	83.1	2.8	80.3	2.1	84.5	4.2
TCEP-d_{12}	50.1	3.6	44.0	4.3	64.1	3.5	61.7	9.8	68.1	5.2	59.6	20.9
TDCPP-d_{15}	84.5	3.3	89.9	1.5	88.5	4.3	90.1	2.1	90.1	1.4	84.5	2.4
$^{13}C_{18}$-TPhP	93.2	2.8	96.0	0.6	90.3	3.1	89.5	2.1	92.8	0.9	93.1	3.0
TDBPP-d_{15}	83.8	4.1	93.8	2.6	94.9	5.6	94.1	3.1	90.8	2.1	74.9	2.7
TBP-d_{27}	99.0	3.1	92.6	1.9	94.7	5.4	93.6	2.0	93.7	3.1	96.0	1.4
$^{13}C_{6}$-TBEP	93.7	3.9	98.1	2.0	95.6	5.4	99.4	2.0	97.0	3.2	118.6	2.3
$^{13}C_{18}$-T4iPPhP	51.4	3.8	92.2	1.0	51.6	5.4	50.2	4.3	85.9	2.5	75.0	1.8
TEHP-d_{51}	11.1	11.5	39.1	2.2	27.5	11.9	21.9	6.3	33.0	5.1	48.8	3.0

Spiked at 5 ng/g; surrogate standards were added at 5 ng/g (n = 5)

N/A: Detected at a relatively high concentration in the unspiked sample.

表 6 TD-14 試料における添加回収試験結果

Compound	TD-14（LLE）		TD-14 （SPE）	
	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)%	RSD%
TEP	95.4	1.1	94.2	2.4
TCEP	92.6	6.8	91.4	2.2
TPrP	102.1	1.6	106.5	0.9
TCPP	99.4	1.9	112.4	3.7
TDCPP	99.8	1.4	104.5	2.3
TPhP	97.7	2.2	101.6	2.4
TDBPP	97.5	2.2	101.8	1.8
TBP	98.9	1.5	99.8	2.5
TBEP	99.6	1.4	102.3	2.5
T*o* TP	96.1	2.2	95.4	0.8
T*m* TP	91.8	2.5	92.0	2.7
T*p* TP	90.6	2.6	91.3	3.5
EHDPhP	93.4	3.0	91.4	1.4
T35DMPhP	96.7	1.1	102.1	2.5
T2iPPhP	100.9	1.2	104.4	1.9
T3iPPhP	100.9	3.6	102.7	5.2
T4iPPhP	101.8	4.6	104.6	3.6
TEHP	105.8	3.0	110.8	1.7
Surrogate	TD-14（LLE）		TD-14 （SPE）	
	Recovery (%)	RSD%	Recovery (%)%	RSD%
TEP-d_{15}	109.9	7.8	93.1	3.7
TPrP-d_{21}	104.7	1.6	82.4	2.2
TCEP-d_{12}	117.2	7.9	64.9	6.2
TDCPP-d_{15}	99.8	3.2	85.9	2.7
$^{13}C_{18}$-TPhP	101.8	2.6	94.0	2.9
TDBPP-d_{15}	95.3	2.5	90.9	1.9
TBP-d_{27}	102.8	2.4	89.6	2.8
$^{13}C_6$-TBEP	93.3	3.6	94.4	2.2
$^{13}C_{18}$-T4iPPhP	80.2	3.1	77.8	2.4
TEHP-d_{51}	82.2	4.6	80.1	3.8

Spiked at 5 ng/mL; surrogate standards were added at 5 ng/mL (n = 5)

LLE: Liquid-Liquid Extraction

SPE: Solid Phase Extraction

表 7 OPFRs の検出下限値

Compound	TD-1 to 13	TD-14(SPE)
TEP	18.7	0.0904
TCEP	61.8	0.0266
TPrP	0.0126	0.00284
TCPP	63.2	0.00541
TDCPP	3.92	0.0159
TPhP	9.32	0.0368
TDBPP	0.0591	0.00254
TBP	20.1	0.0130
TBEP	6.79	0.0245
ToTP	0.0594	0.00755
TmTP	0.0592	0.00620
TpTP	0.0657	0.00379
EHDPhP	1.30	0.00784
T35DMPhP	0.0116	0.000120
T2iPPhP	0.541	0.000557
T3iPPhP	0.00804	0.000613
T4iPPhP	0.0136	0.0244
TEHP	1.05	0.000465

ng/g(TD-14, ng/mL), calculated as the concentration in the sample

表 8 検出下限値相当濃度における OPFRs 摂取量の試算

Compounds	Intake*[1] (mg/kg bw/day)	TDI ratio (%)	TDI (mg/kg/day)
TEP	0.000746	0.075	1.000
TCEP	0.00246	11	0.022
TCPP	0.00252	7.0	0.036
TDCPP	0.000156	1.0	0.0153
TPhP	0.000371	0.23	0.161
TBP	0.000798	8.9	0.009
TBEP	0.000270	1.8	0.015
ToTP	0.00000240	0.048	0.005
TmTP	0.00000239	0.048	0.005
TpTP	0.00000264	0.053	0.005
TEHP	0.0000419	0.042	0.1[*2]

*1 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)

*2 Provisional RfD

表 9 食品試料の分析結果

Compound	TD-1	TD-2	TD-3	TD-4	TD-5	TD-6	TD-7	TD-8	TD-9	TD-10	TD-11	TD-12	TD-13	salmon	mineral water
TEP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	24.8	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TCEP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TPrP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TCPP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TDCPP	<LOD	<LOD	4.78	<LOD	<LOD	6.58	5.91	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	4.55	<LOD	<LOD
TPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TDBPP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TBP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TBEP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
ToTP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TmTP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TpTP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
EHDPhP	<LOD	<LOD	<LOD	1.39	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
T35DMPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
T2iPPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
T3iPPhP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
T4iPPhP	<LOD	<LOD	0.0190	0.0449	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0139	<LOD	<LOD
TEHP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

ng/g(mineral water: ng/mL), calculated as the concentration in the sample

表 10 推定摂取量の試算結果

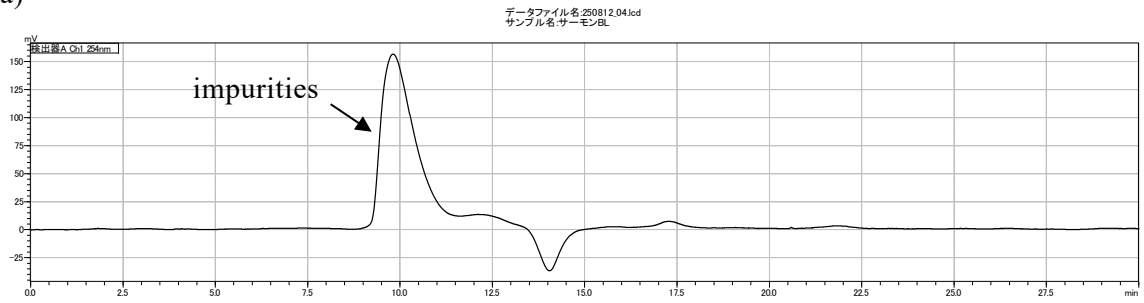
Compounds	Intake (ng/person/day)[*1]	Intake (mg/kg bw/day)[*2]	TDI ratio (%)
TEP	37659	0.0008	0.075
TCEP	122982	0.002	11
TPrP	26	0.0000005	-
TCPP	125784	0.003	7.0
TDCPP	8269	0.0002	1.1
TPhP	18554	0.0004	0.23
TDBPP	118	0.000002	-
TBP	39918	0.0008	8.9
TBEP	13522	0.0003	1.8
ToTP	120	0.000002	0.048
TmTP	119	0.000002	0.048
TpTP	132	0.000003	0.053
EHDPhP	2597	0.00005	-
T35DMPhP	23	0.0000005	-
T2iPPhP	1076	0.00002	-
T3iPPhP	16	0.0000003	-
T4iPPhP	34	0.0000007	-
TEHP	2095	0.00004	0.042[*3]

*1 Calculated based on 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)

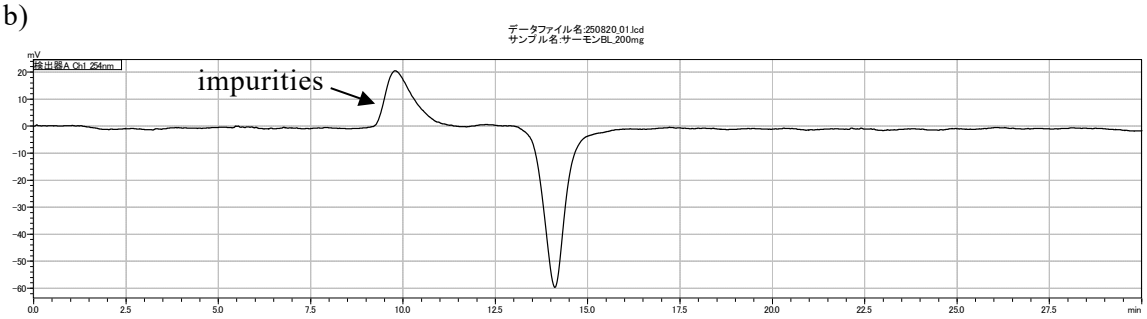
*2 Body weight of 50 kg

*3 Provisional RfD

a)



b)



c)

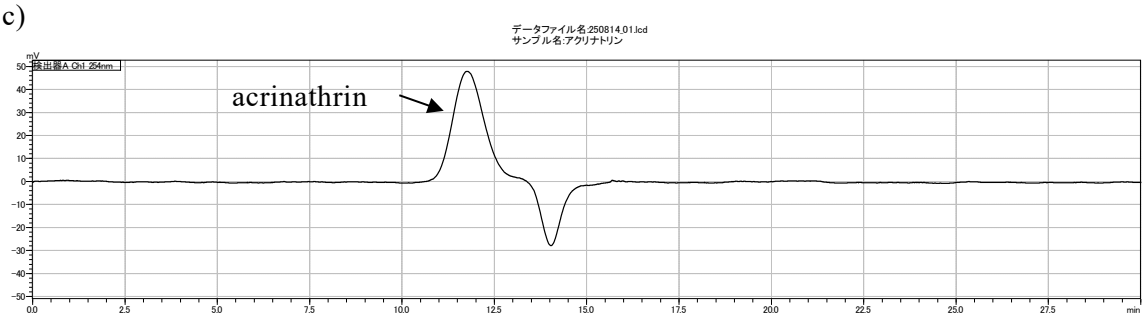


図 1　GPC 精製におけるクロマトグラム

a)サーモン抽出液　20 mL(試料 2 g 相当)

b)サーモン抽出液　2 mL(試料 0.2 g 相当)

c)アクリナトリン標準溶液(100　μg/mL)

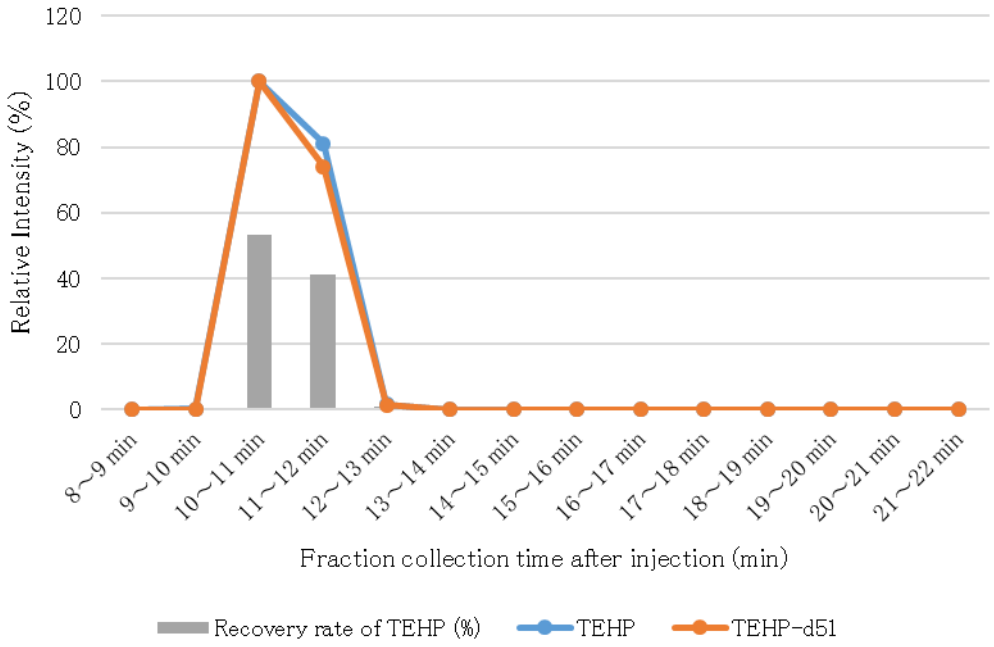


図 2 TEHP の溶出挙動

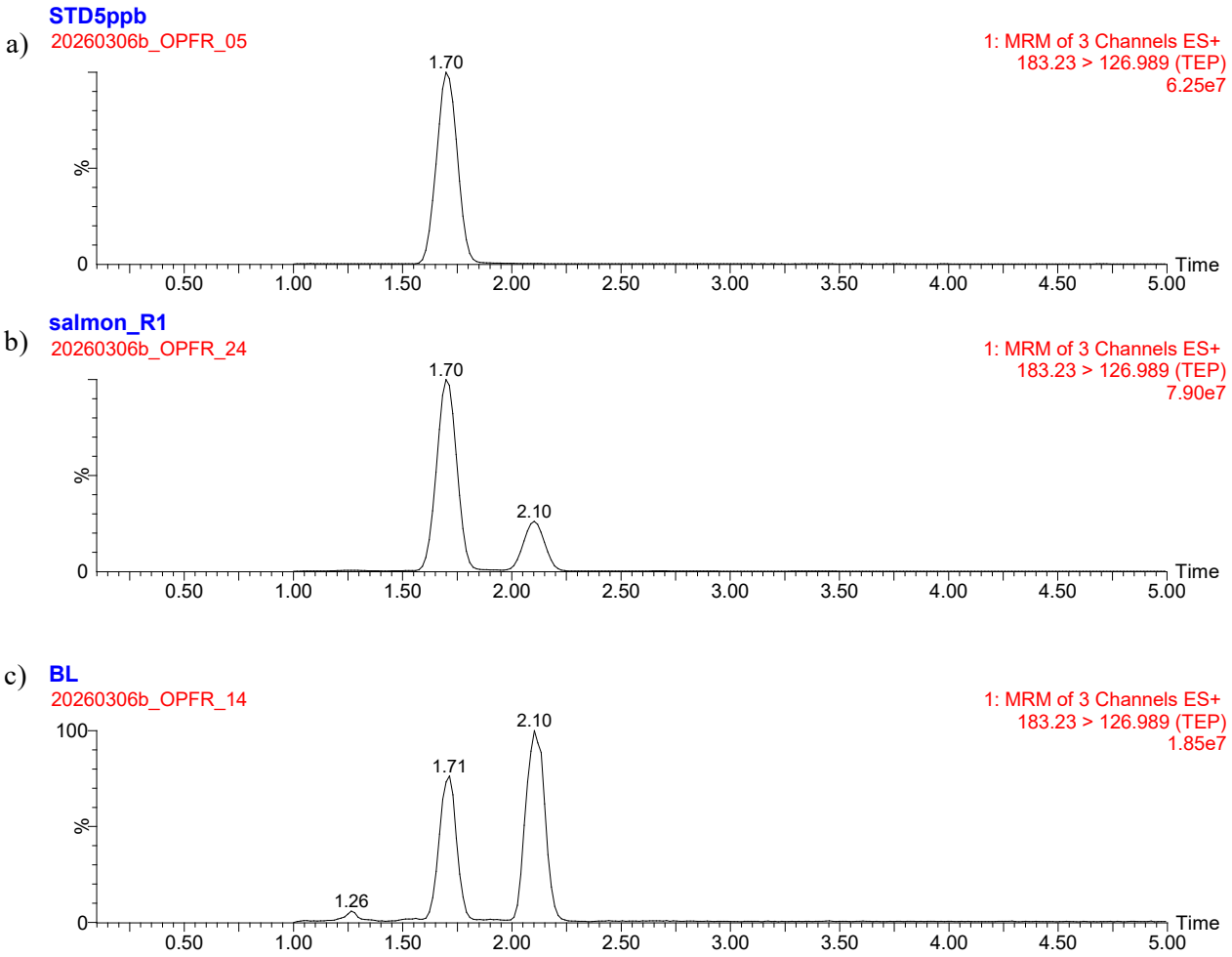


図 3 TEP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

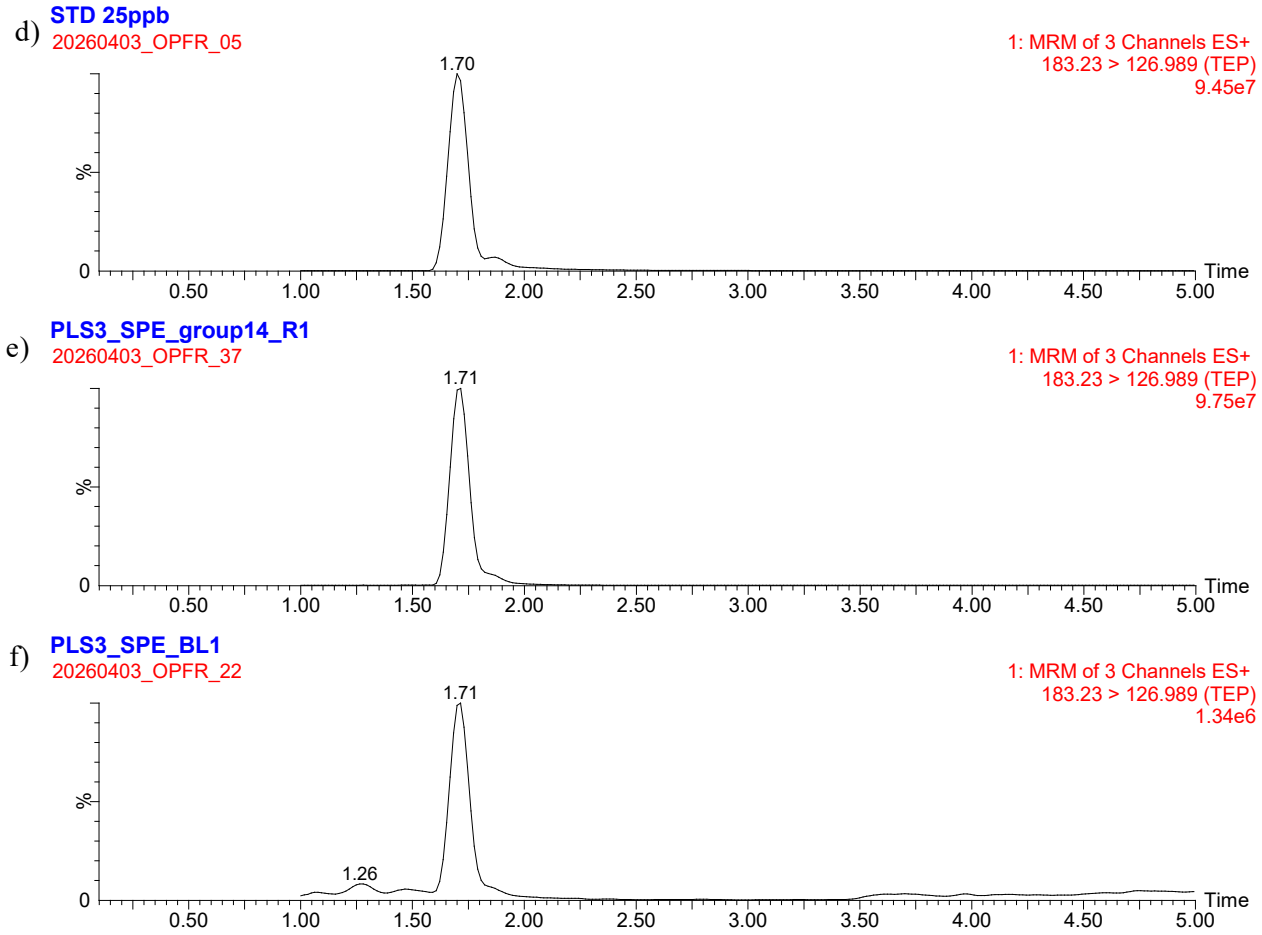


図 3 TEP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

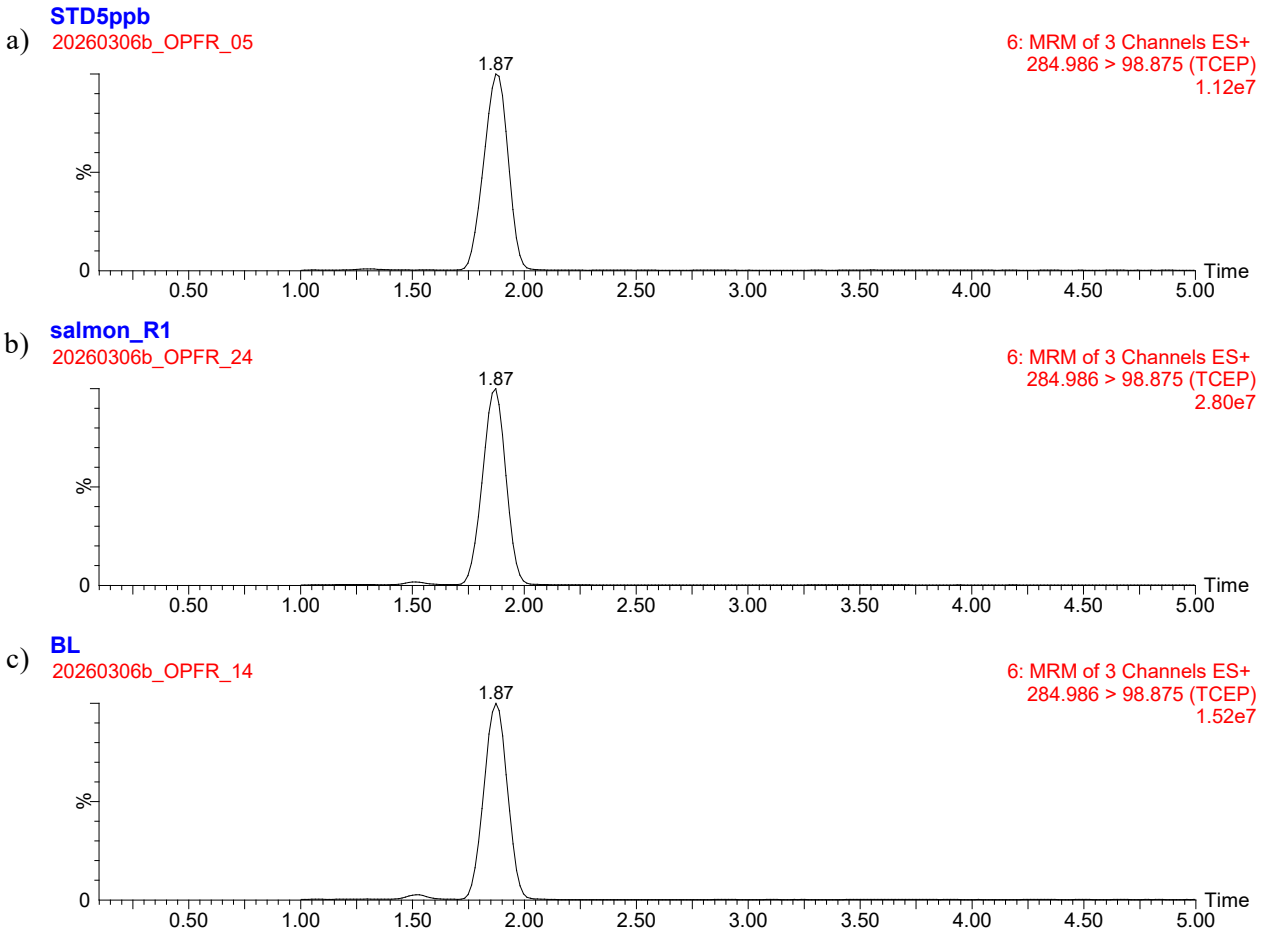


図 4 TCEP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

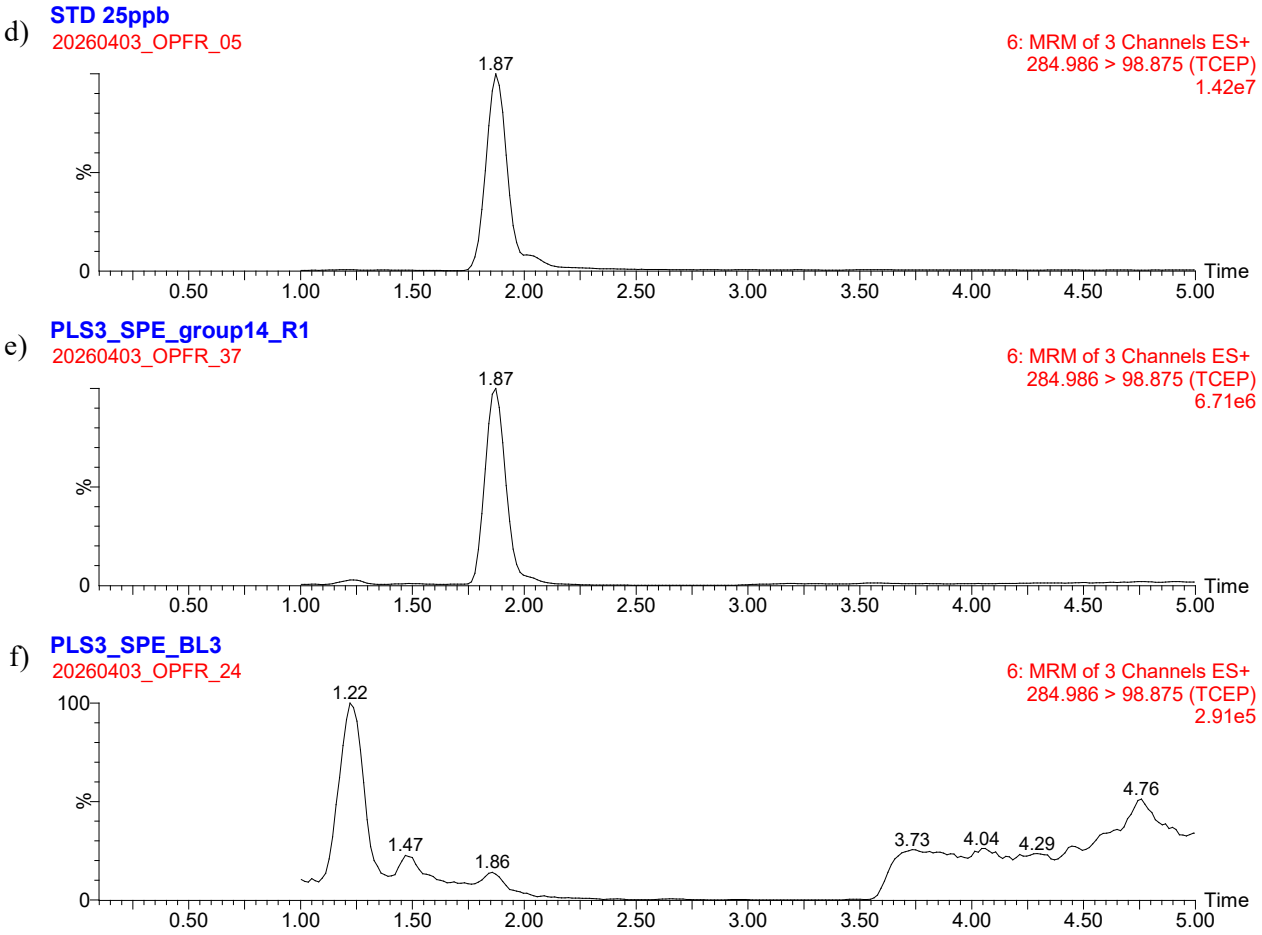


図 4 TCEP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

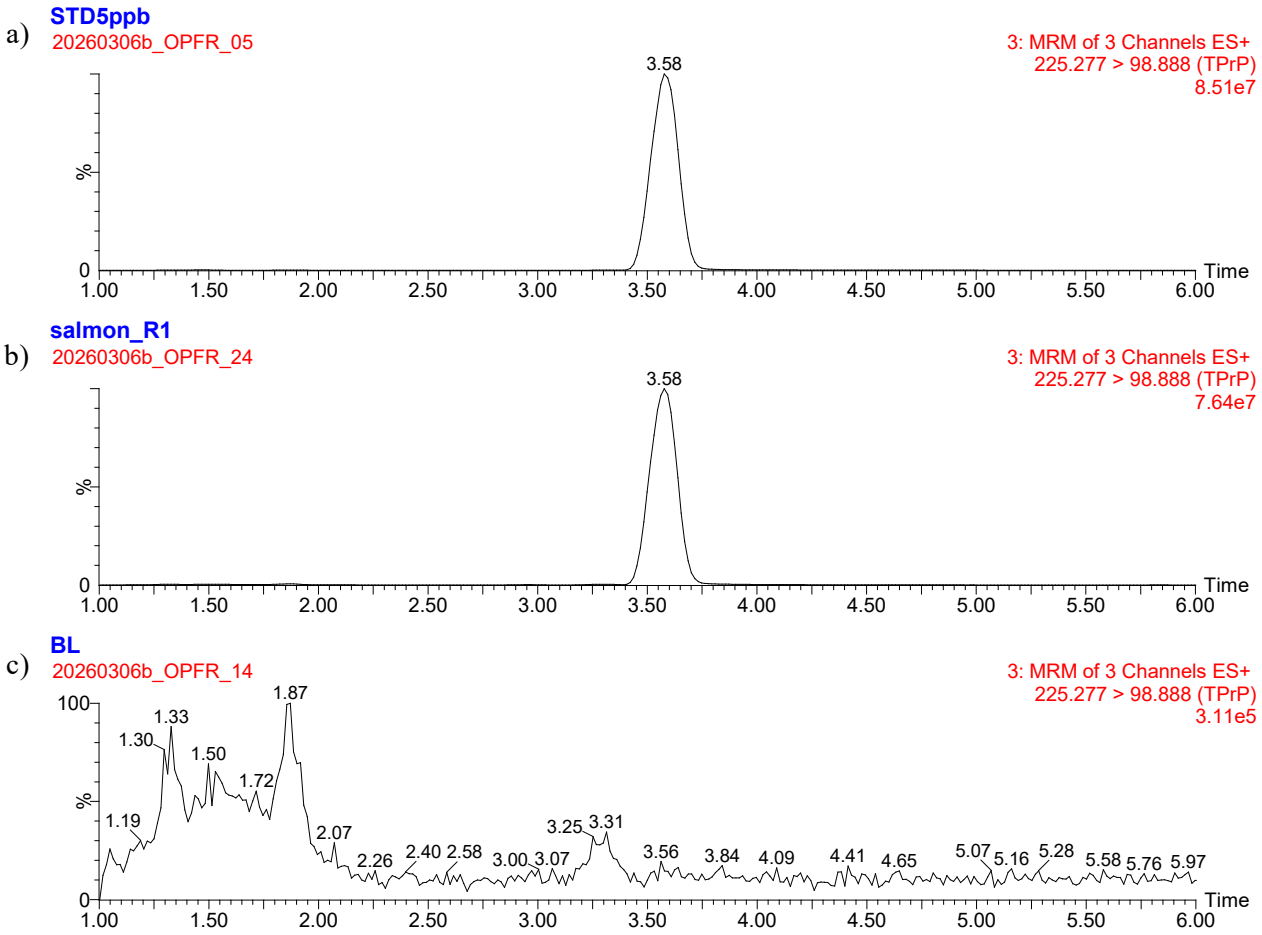


図 5 TPrP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

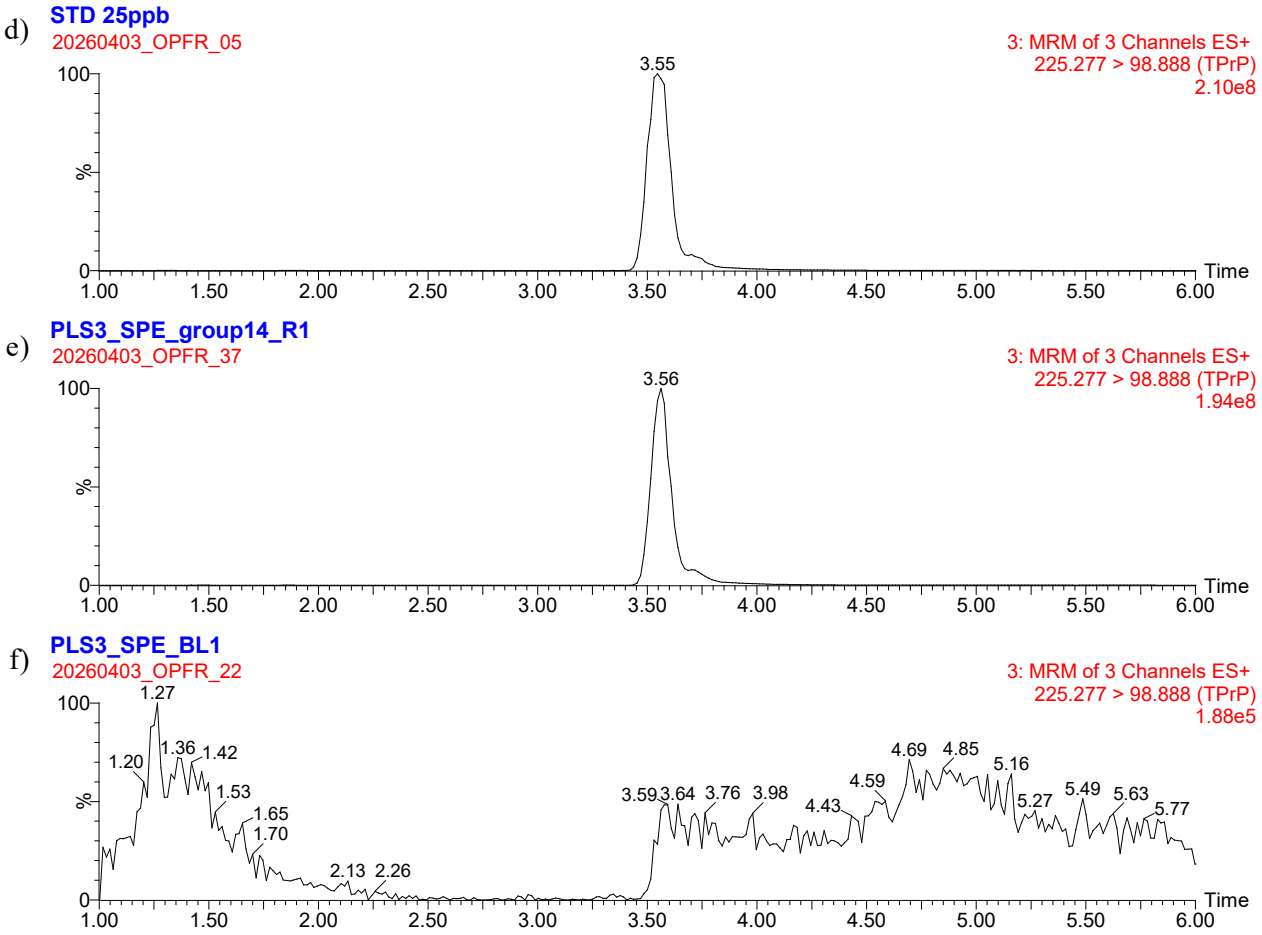


図 5 TPrP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

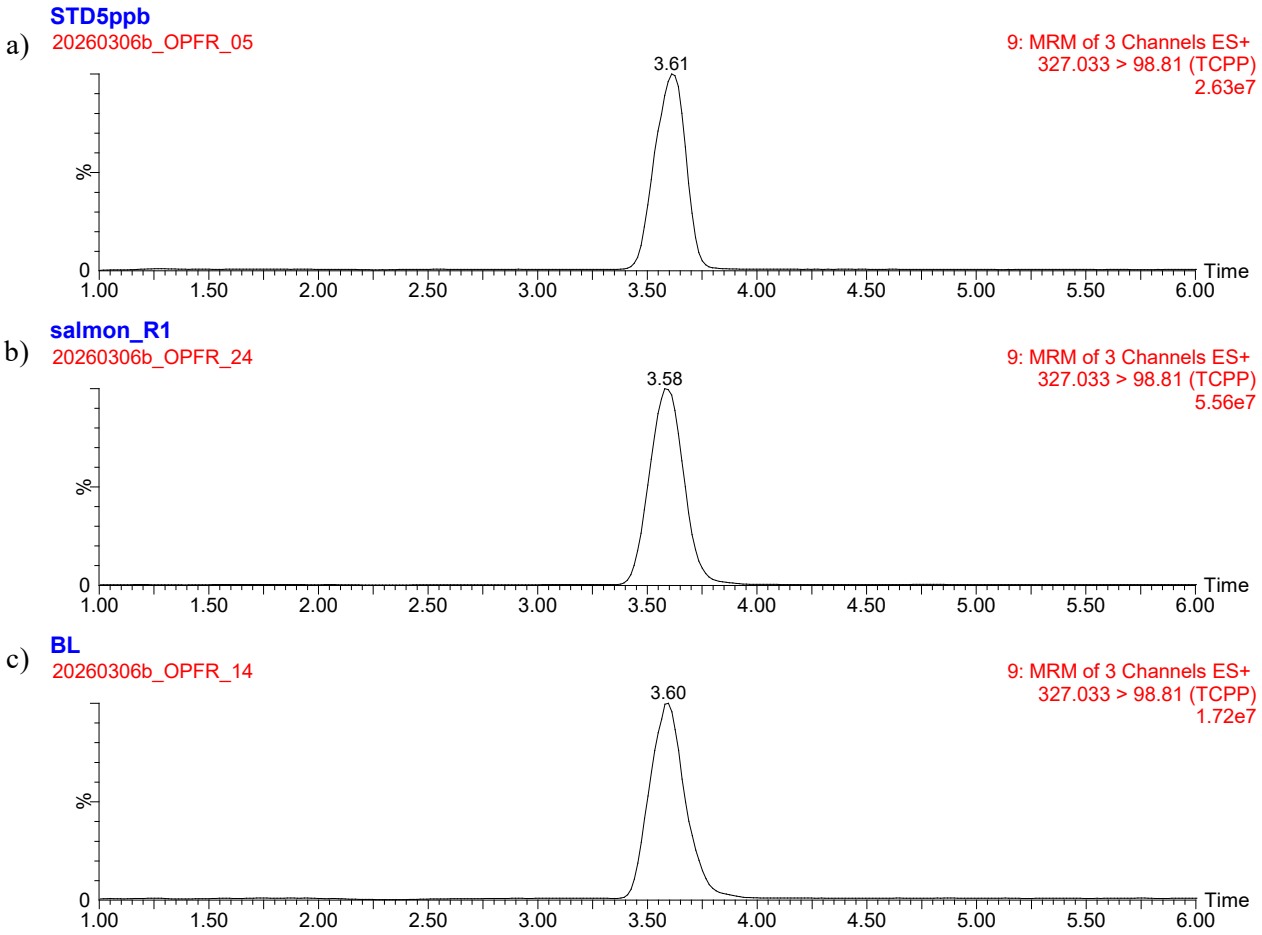


図 6 TCPP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

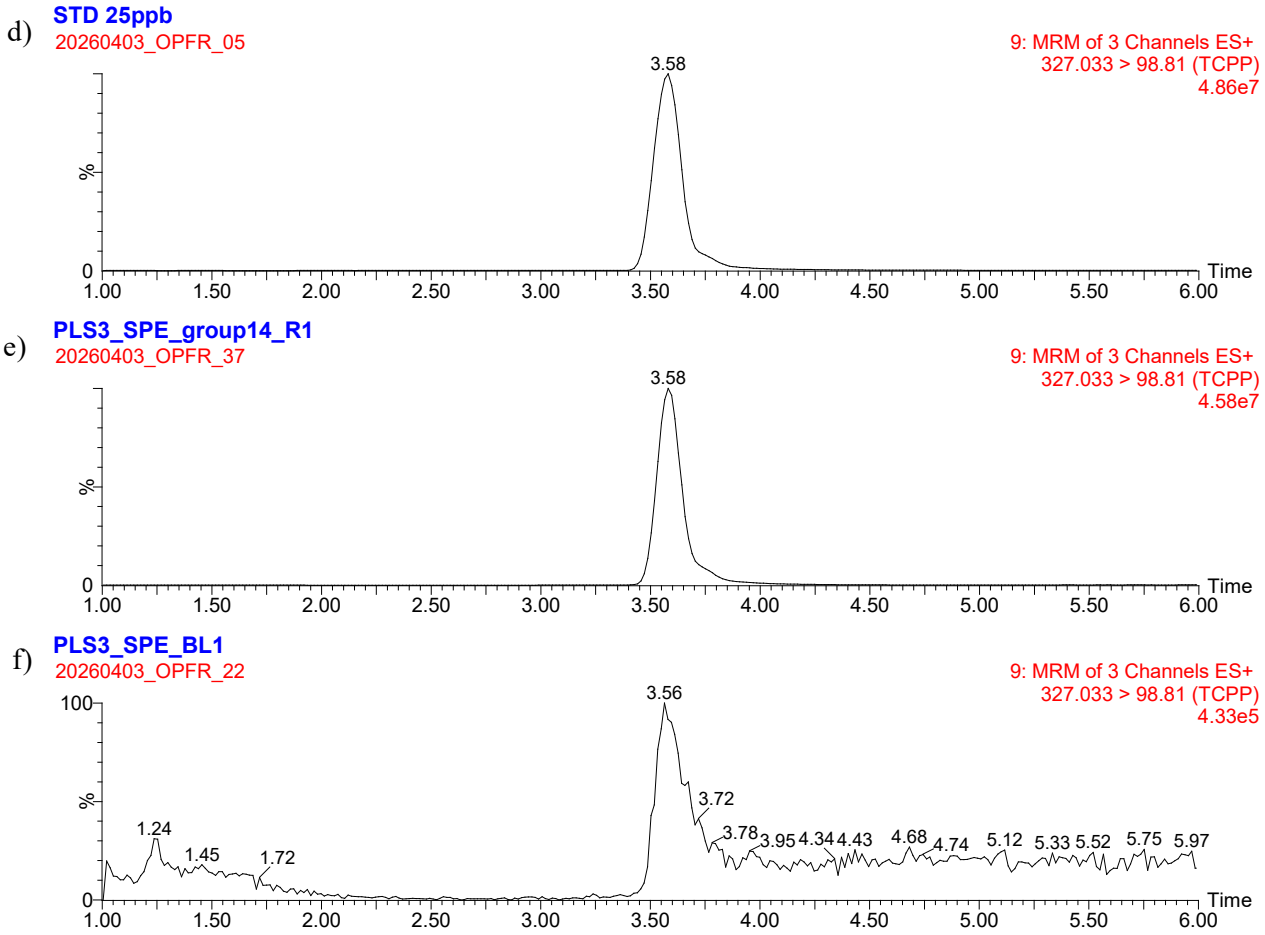


図 6 TCPP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

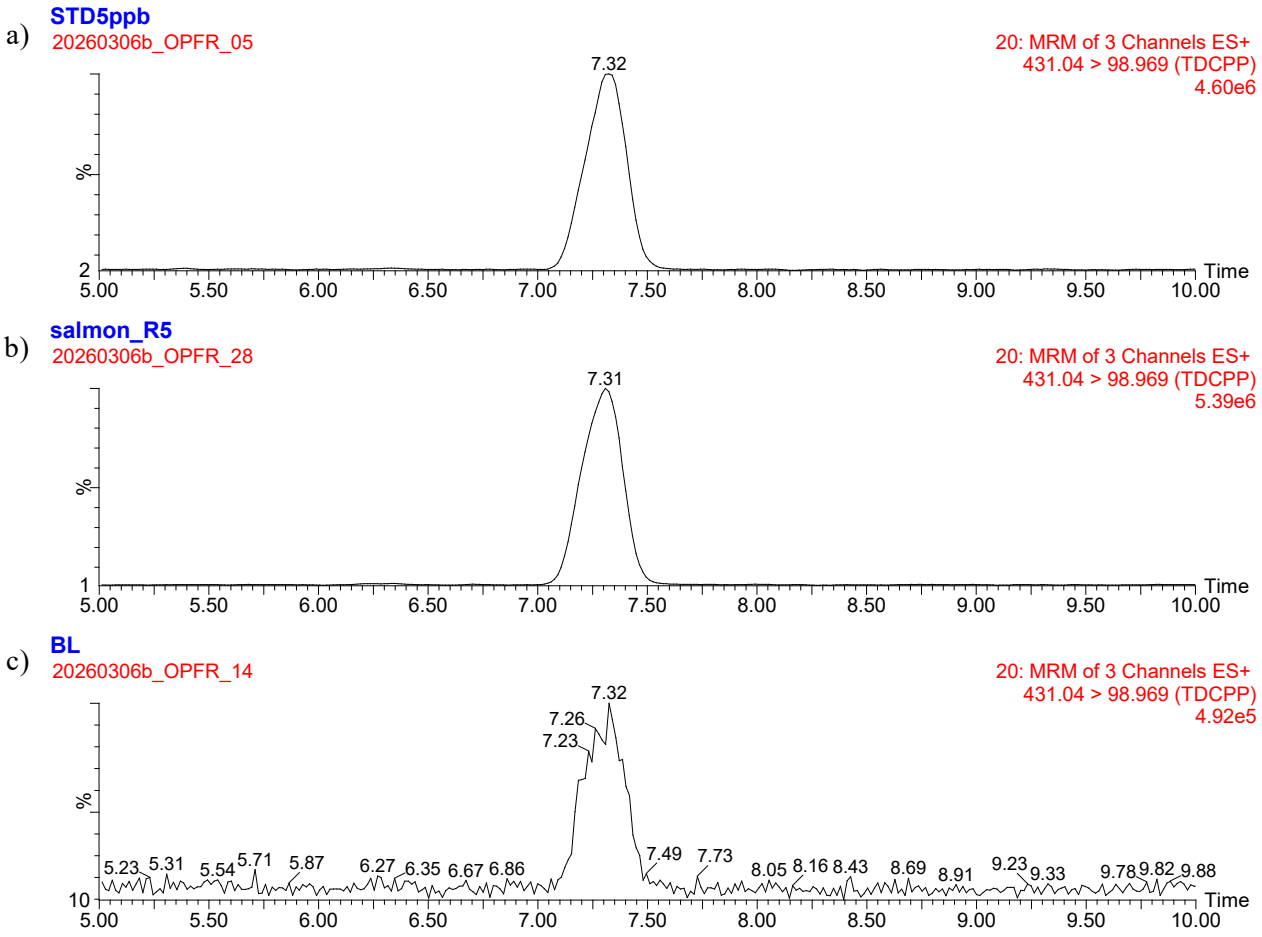


図 7 TDCPP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

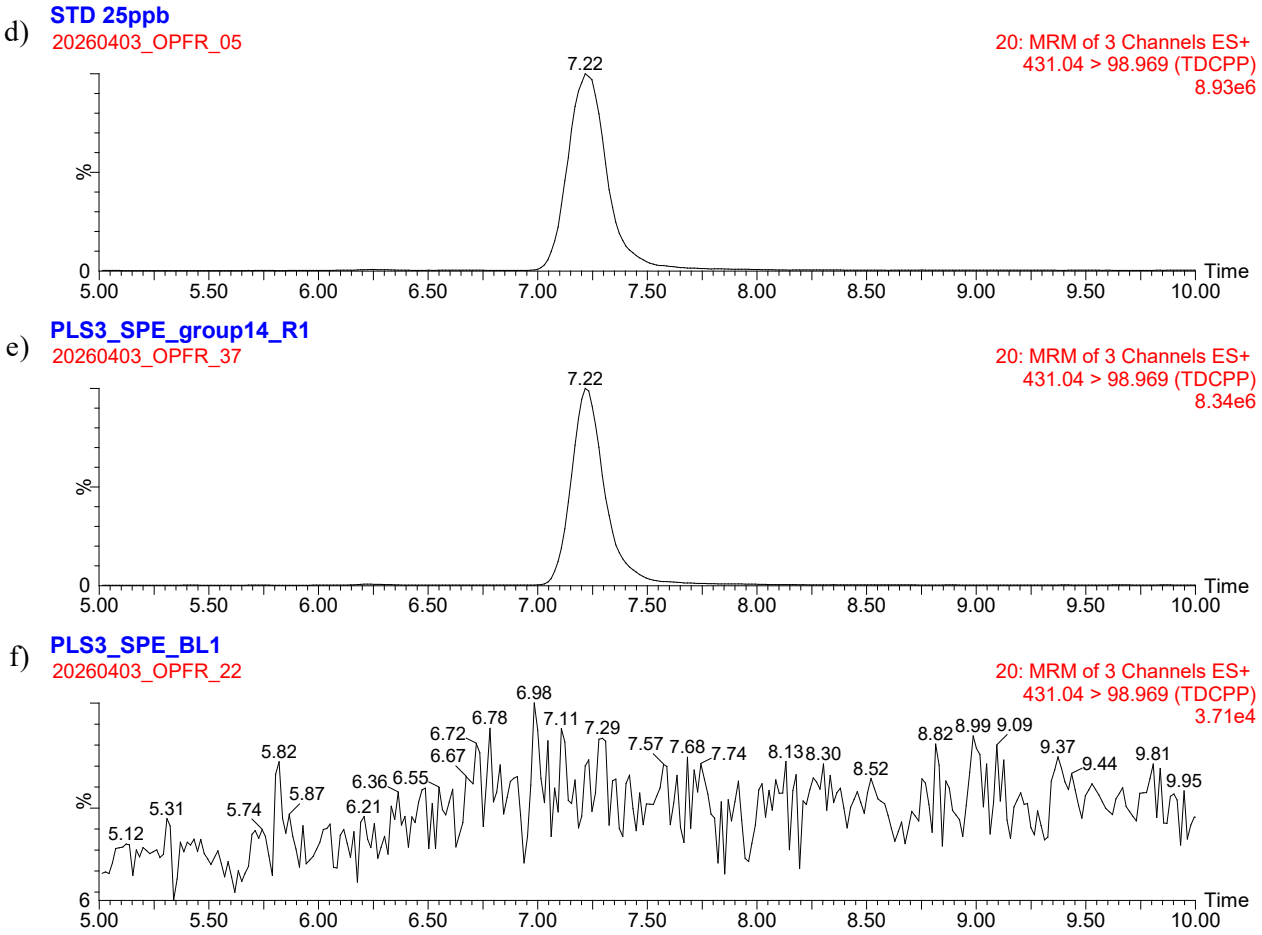


図 7 TDCPP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

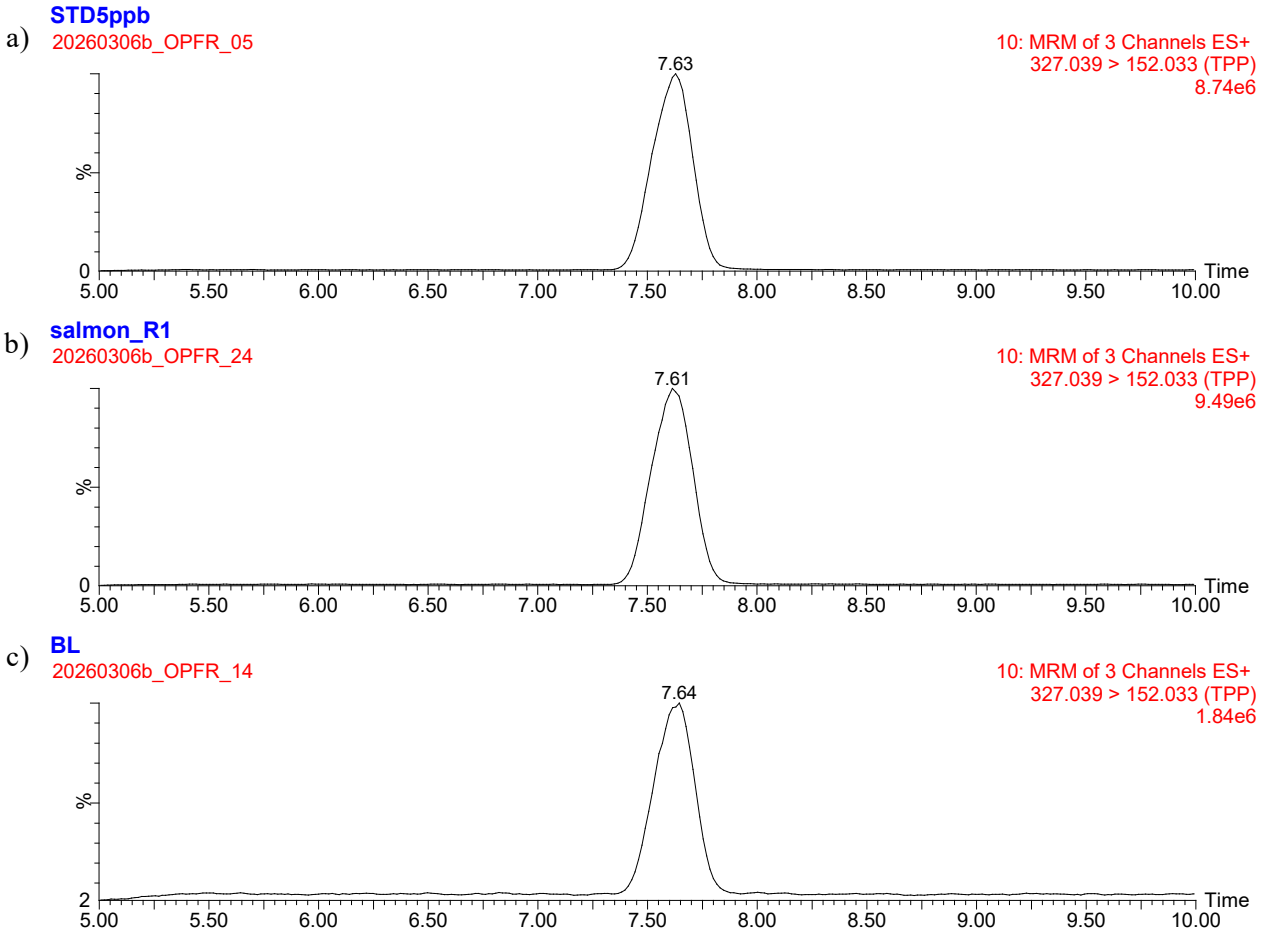


図 8 TPhP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

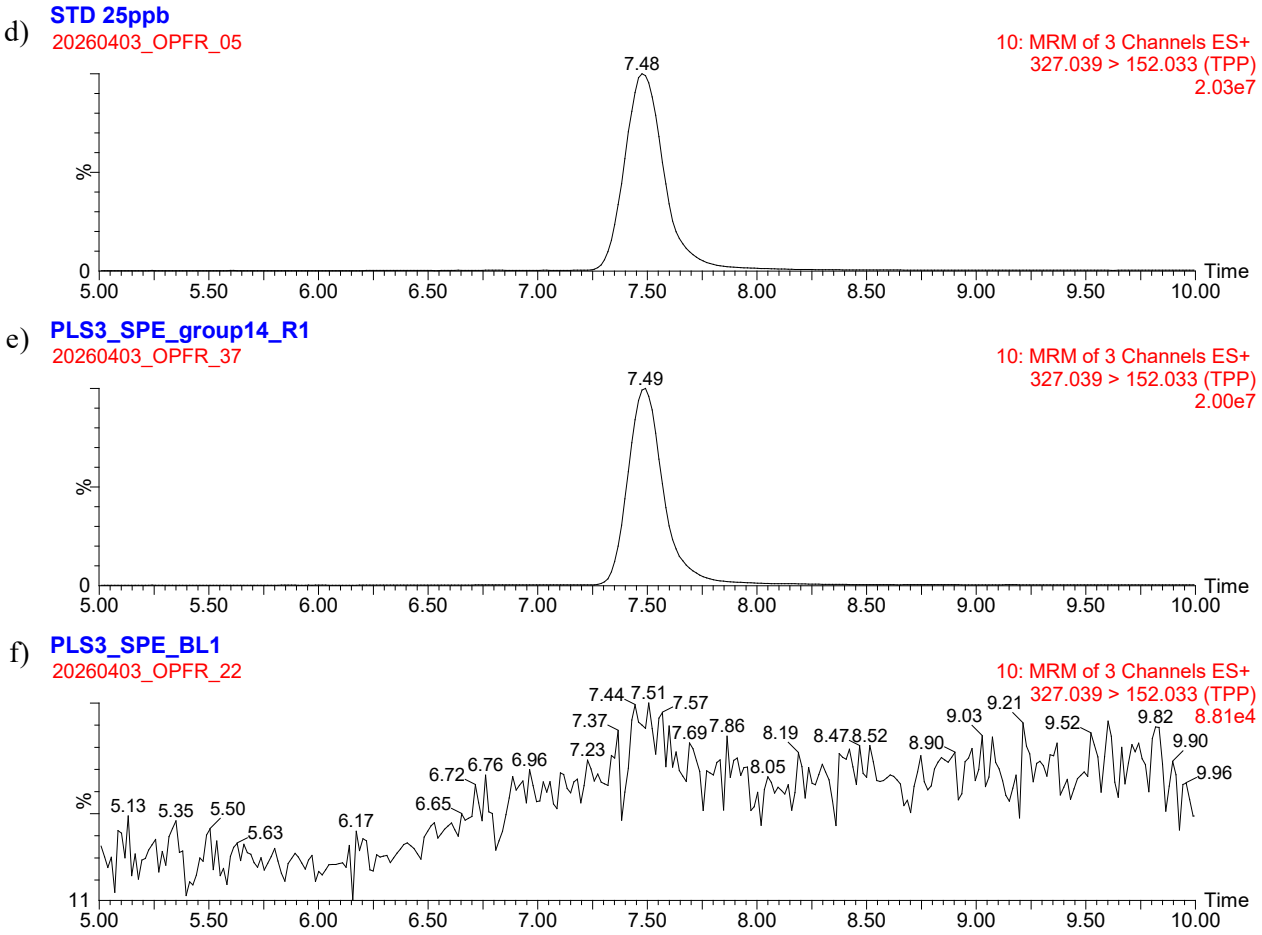


図 8 TPhP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

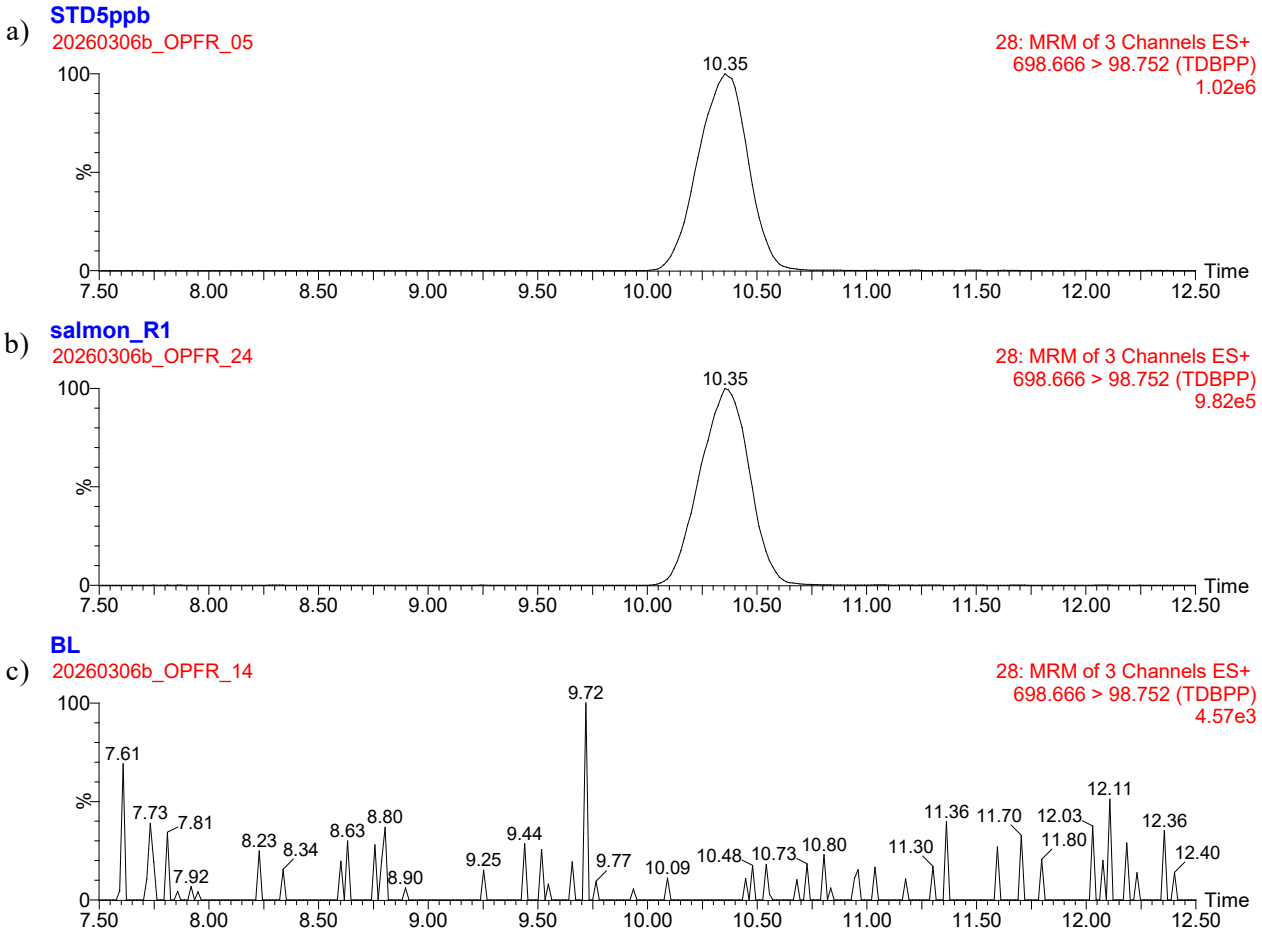


図 9 TDBPP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

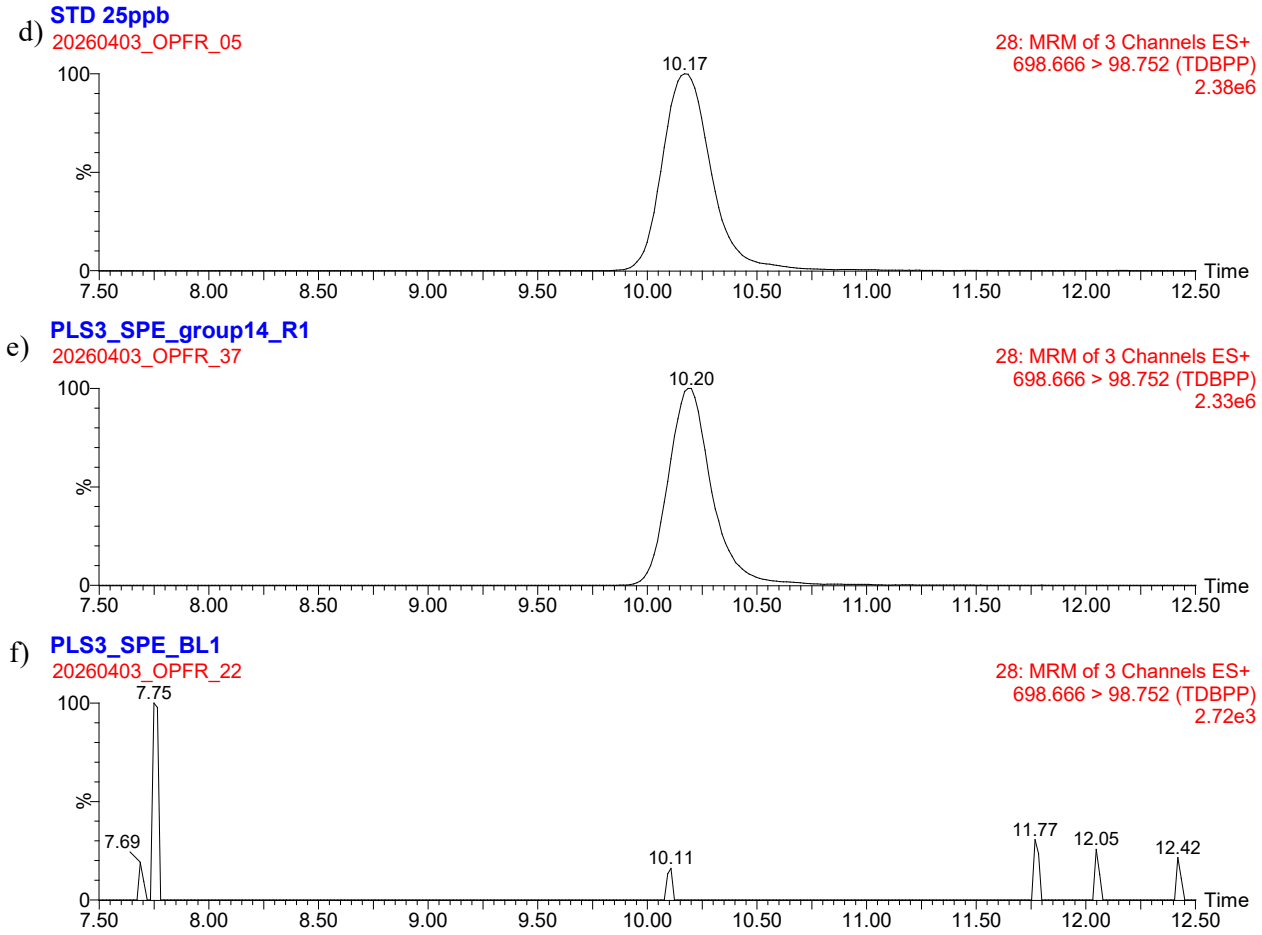


図 9 TDBPP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

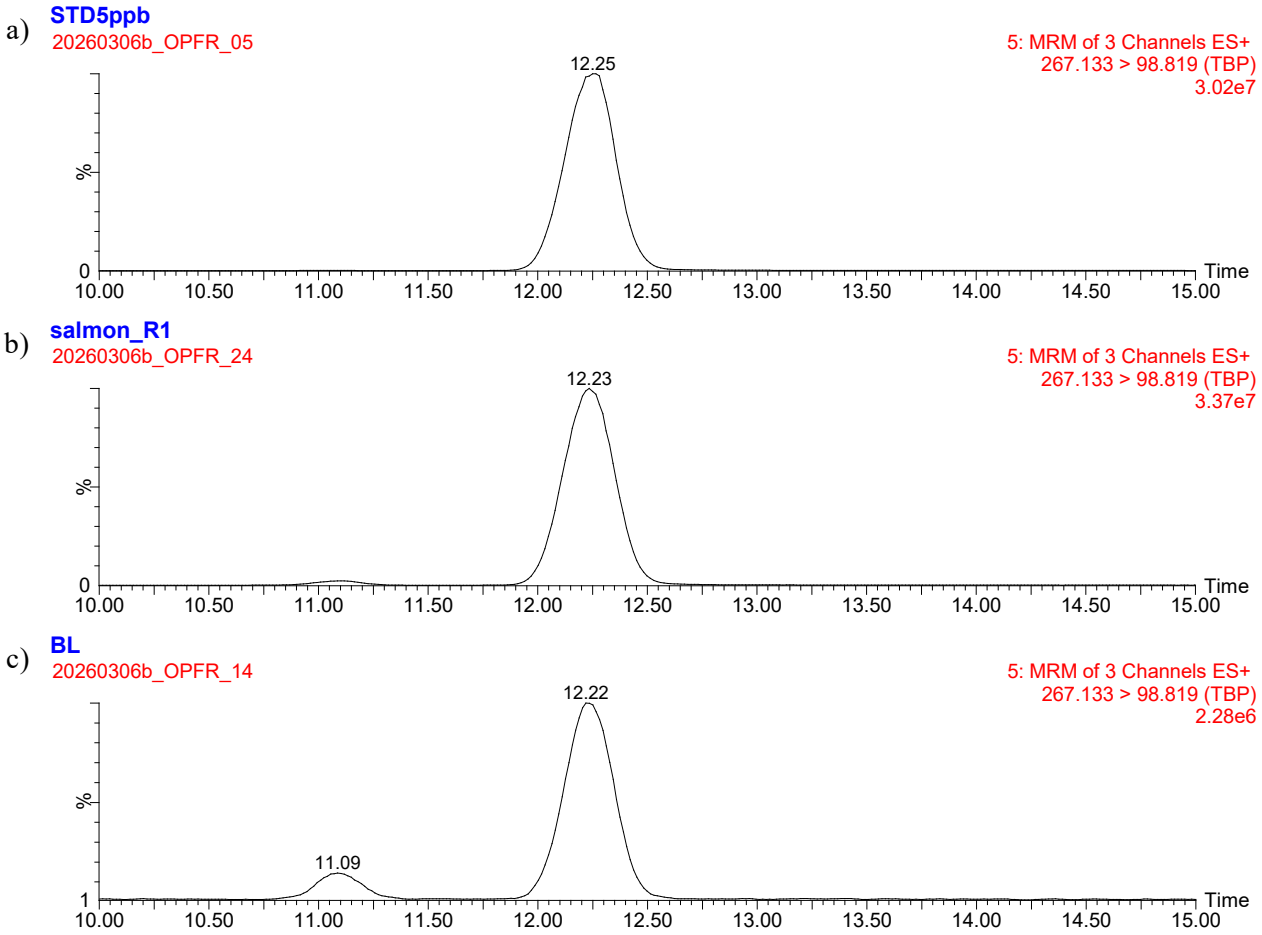


図 10 TBP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

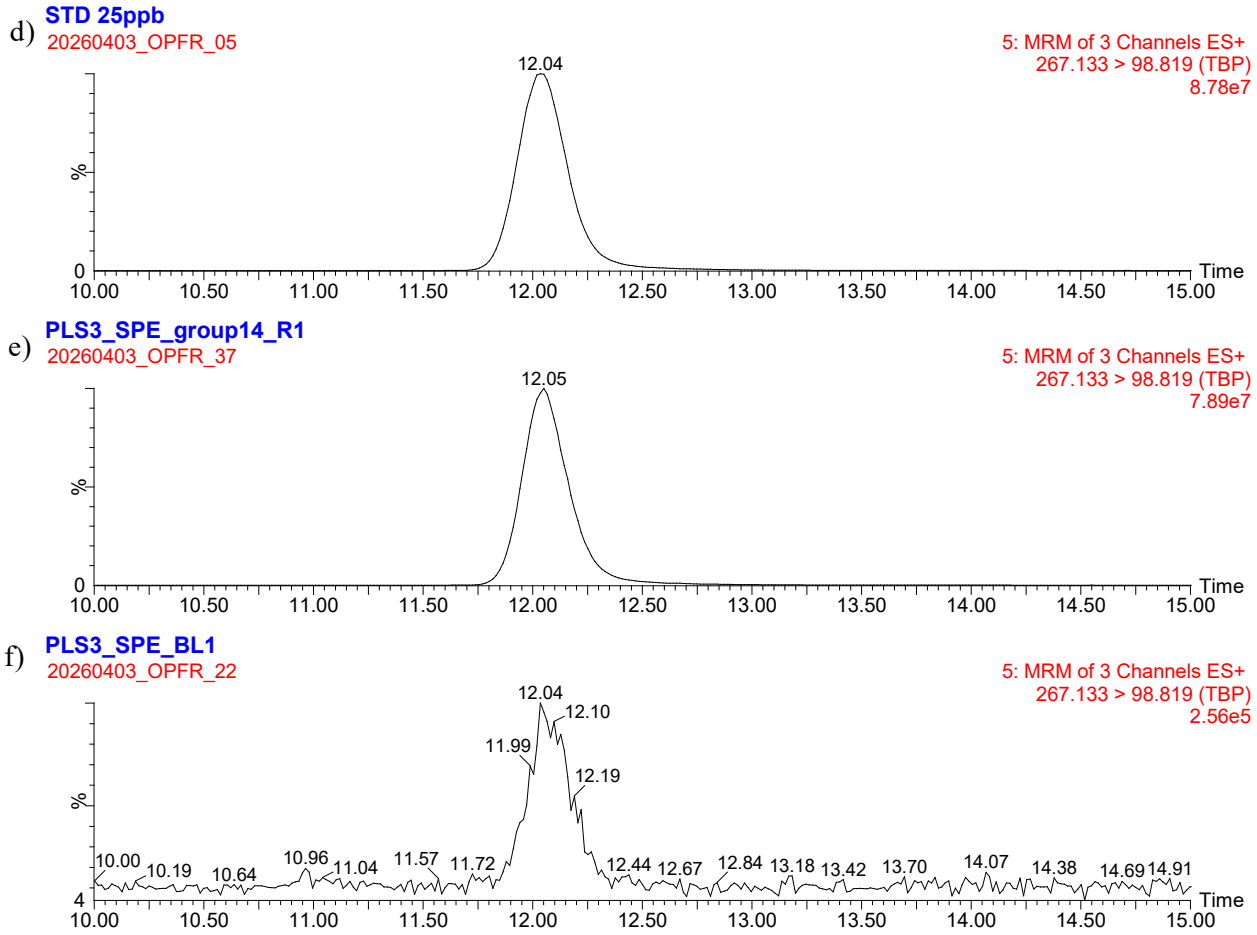


図 10 TBP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

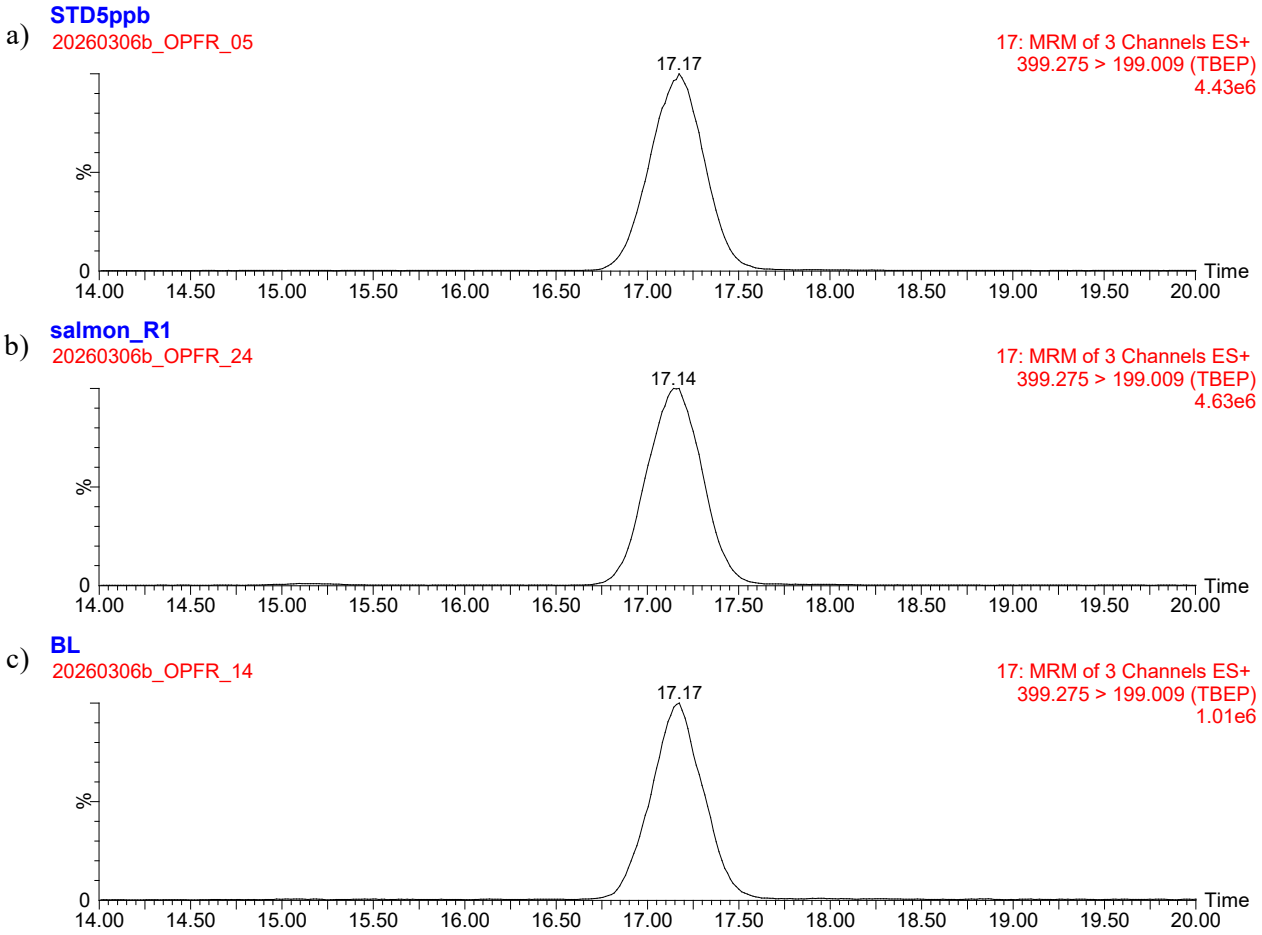


図 11 TBEP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

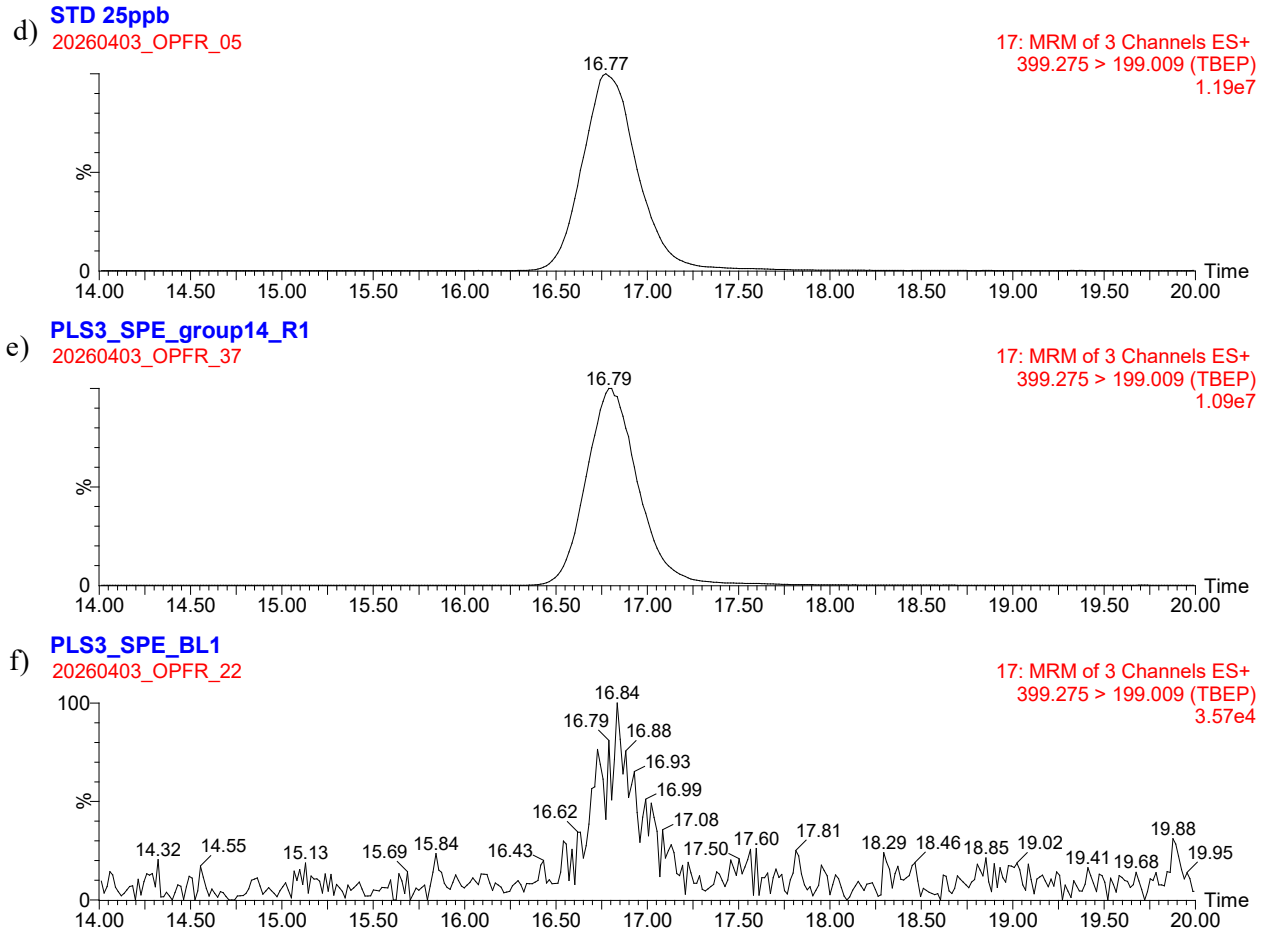


図 11 TBEP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

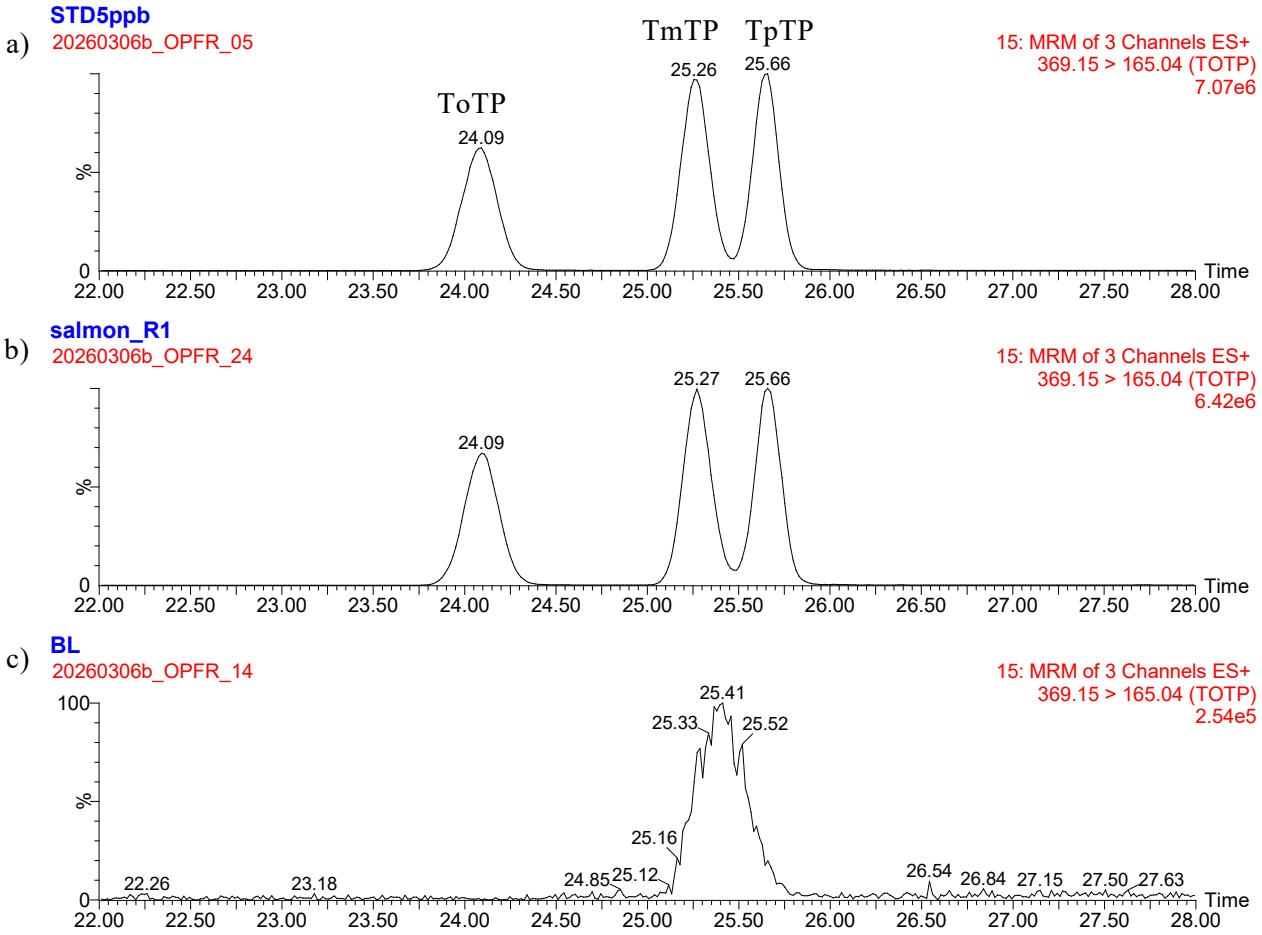


図 12 ToTP、TmTP、TpTP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

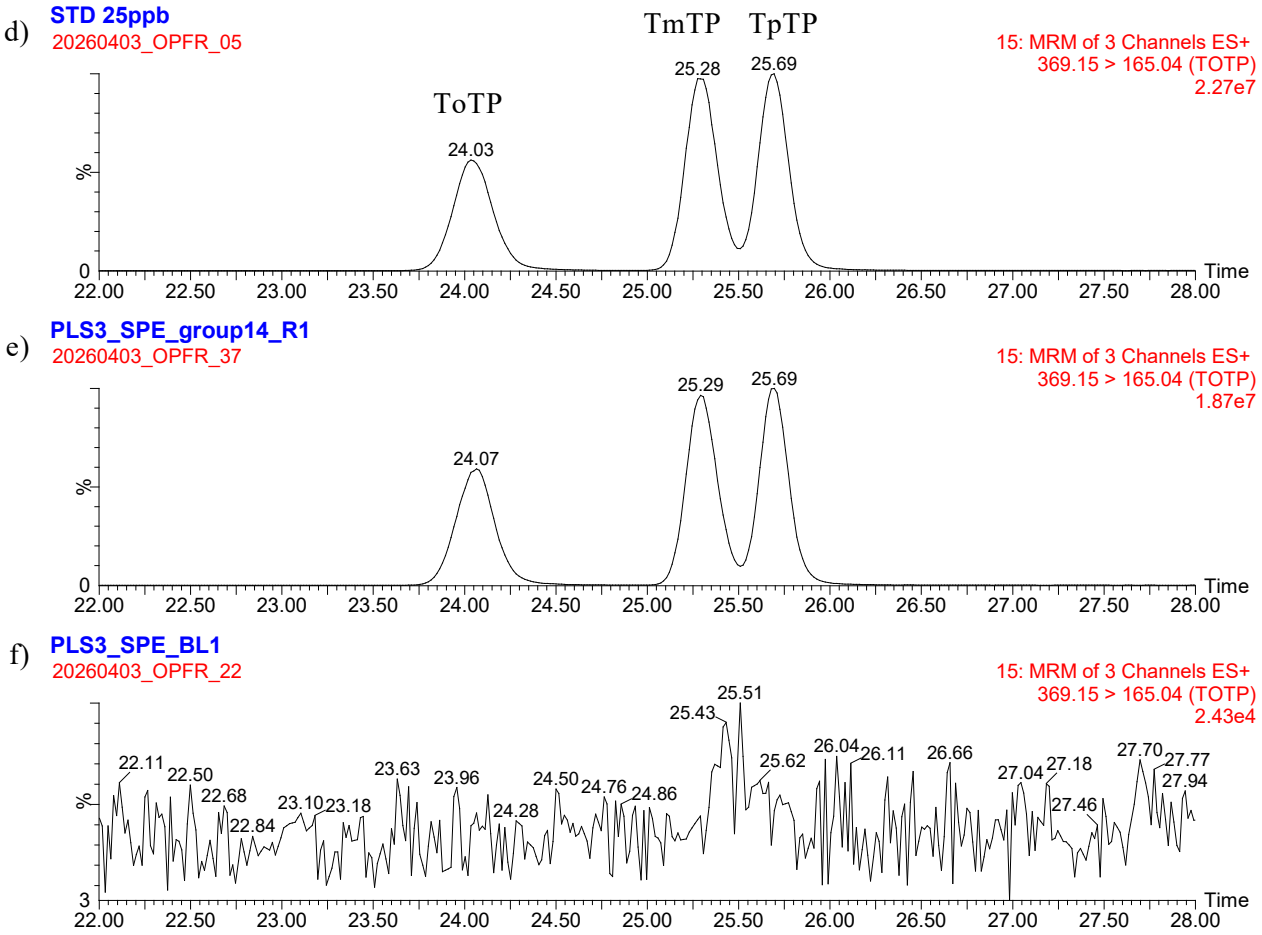


図 12 ToTP、TmTP、TpTP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

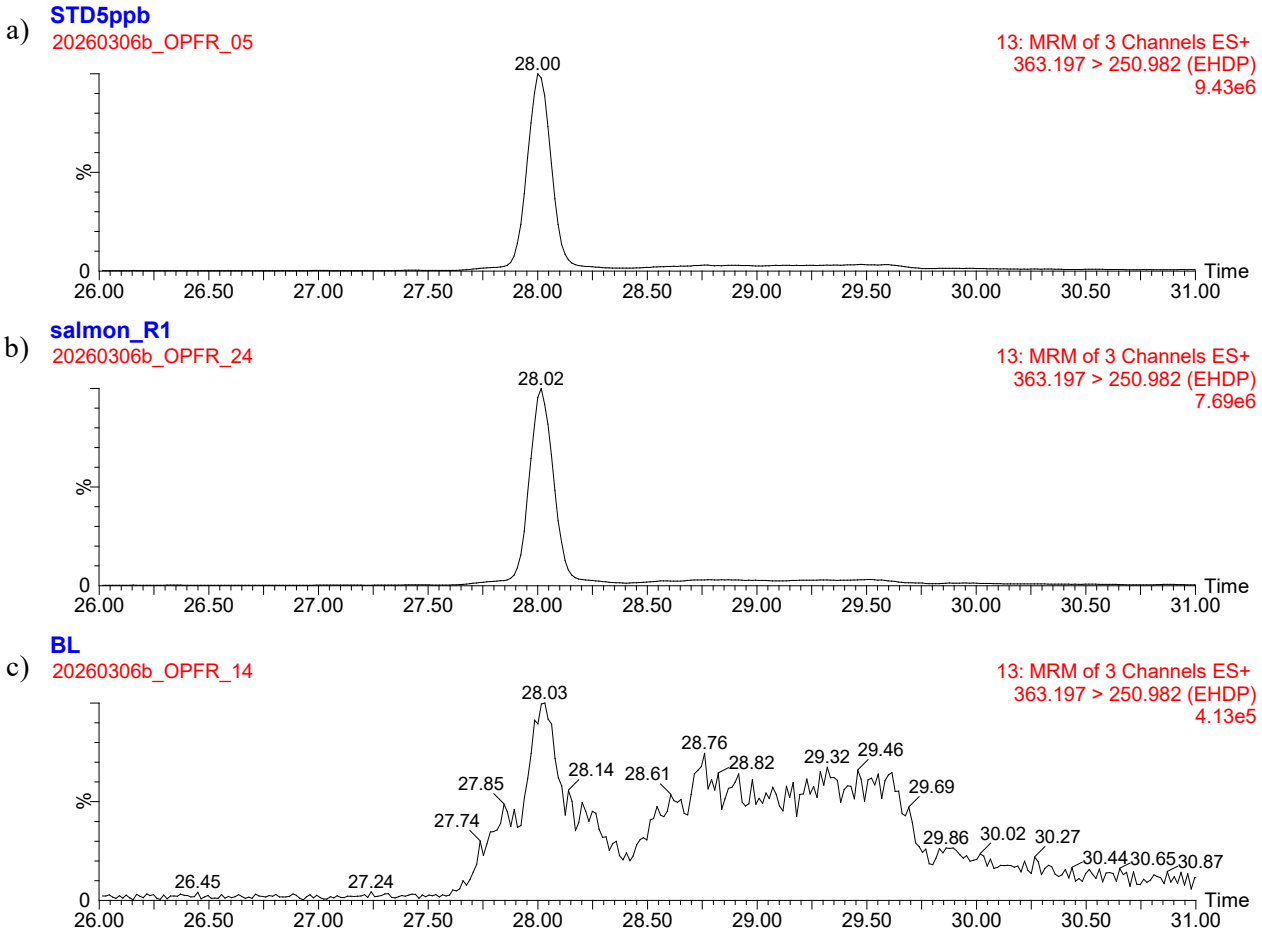


図 13 EHDPhP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

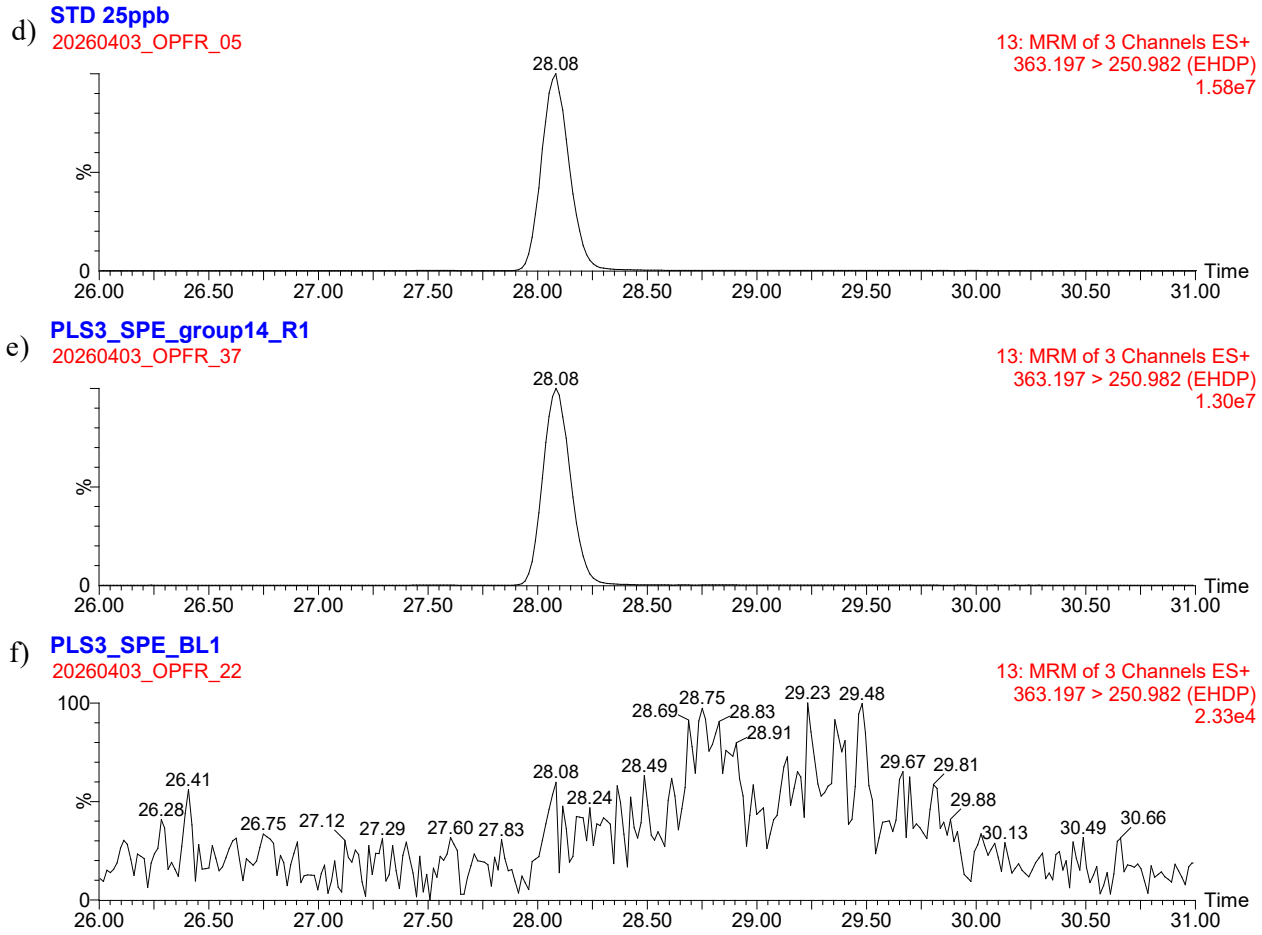


図 13 EHDPhP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

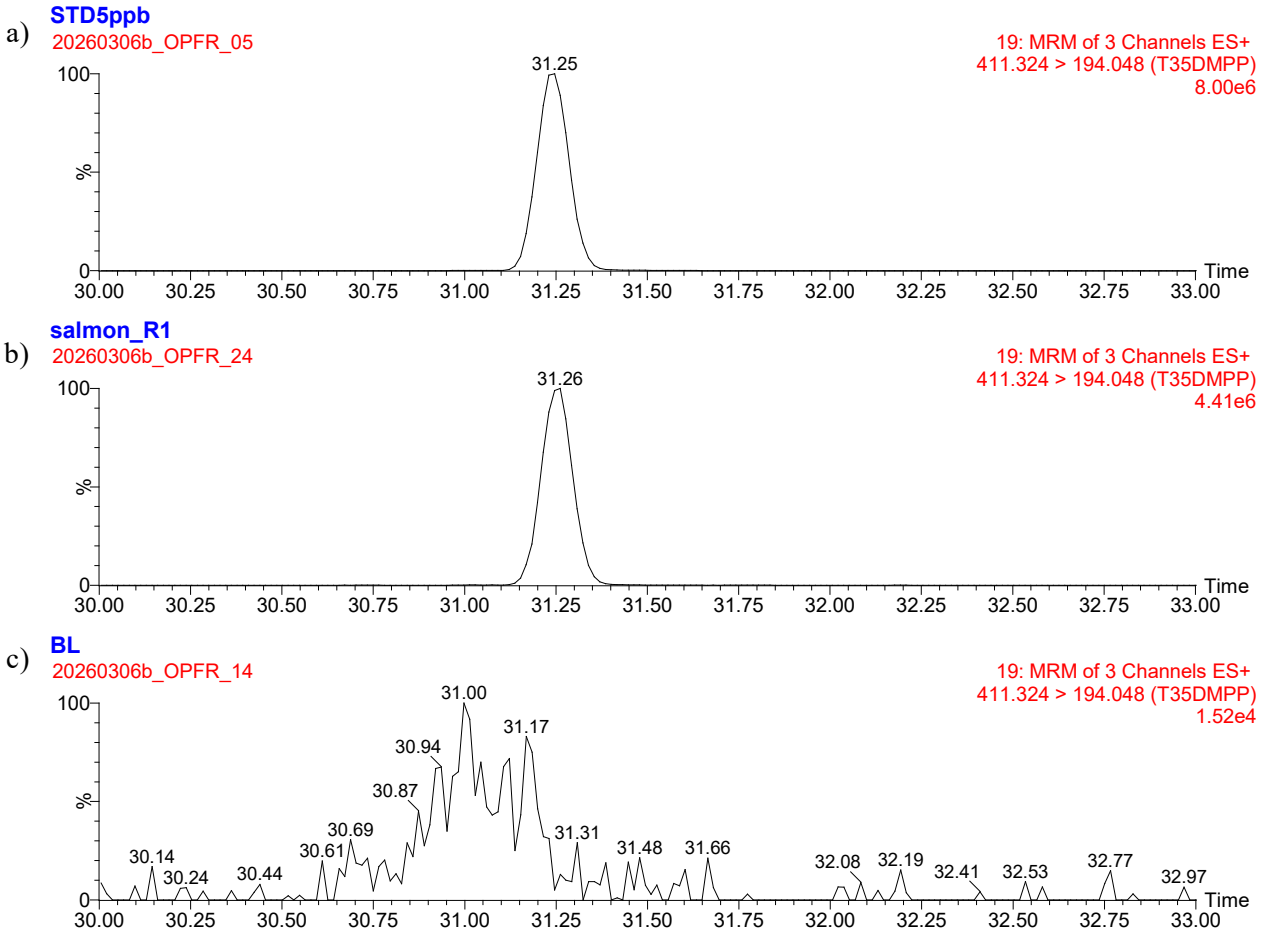


図 14 T35DMPhP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

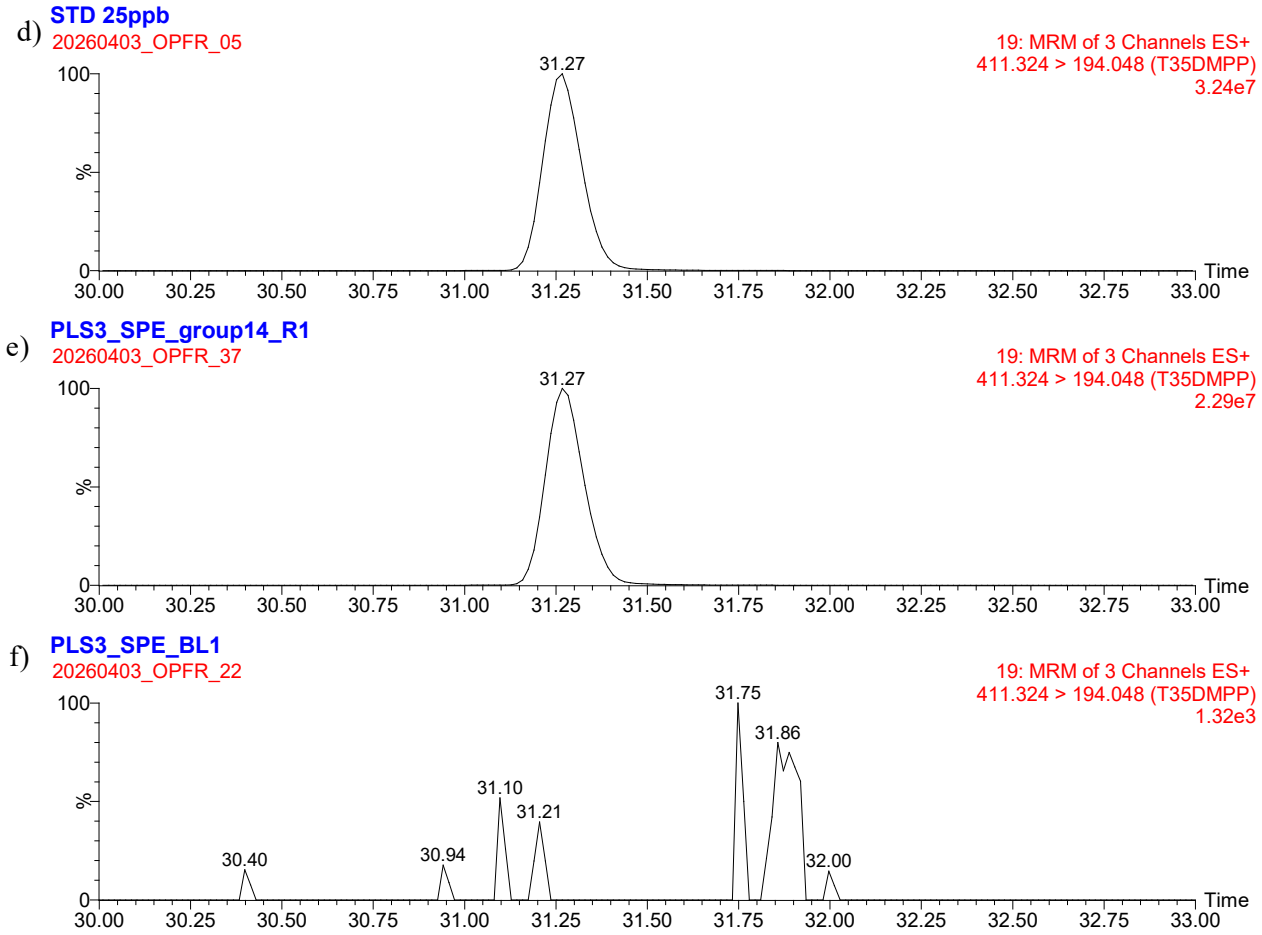


図 14 T35DMPhP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

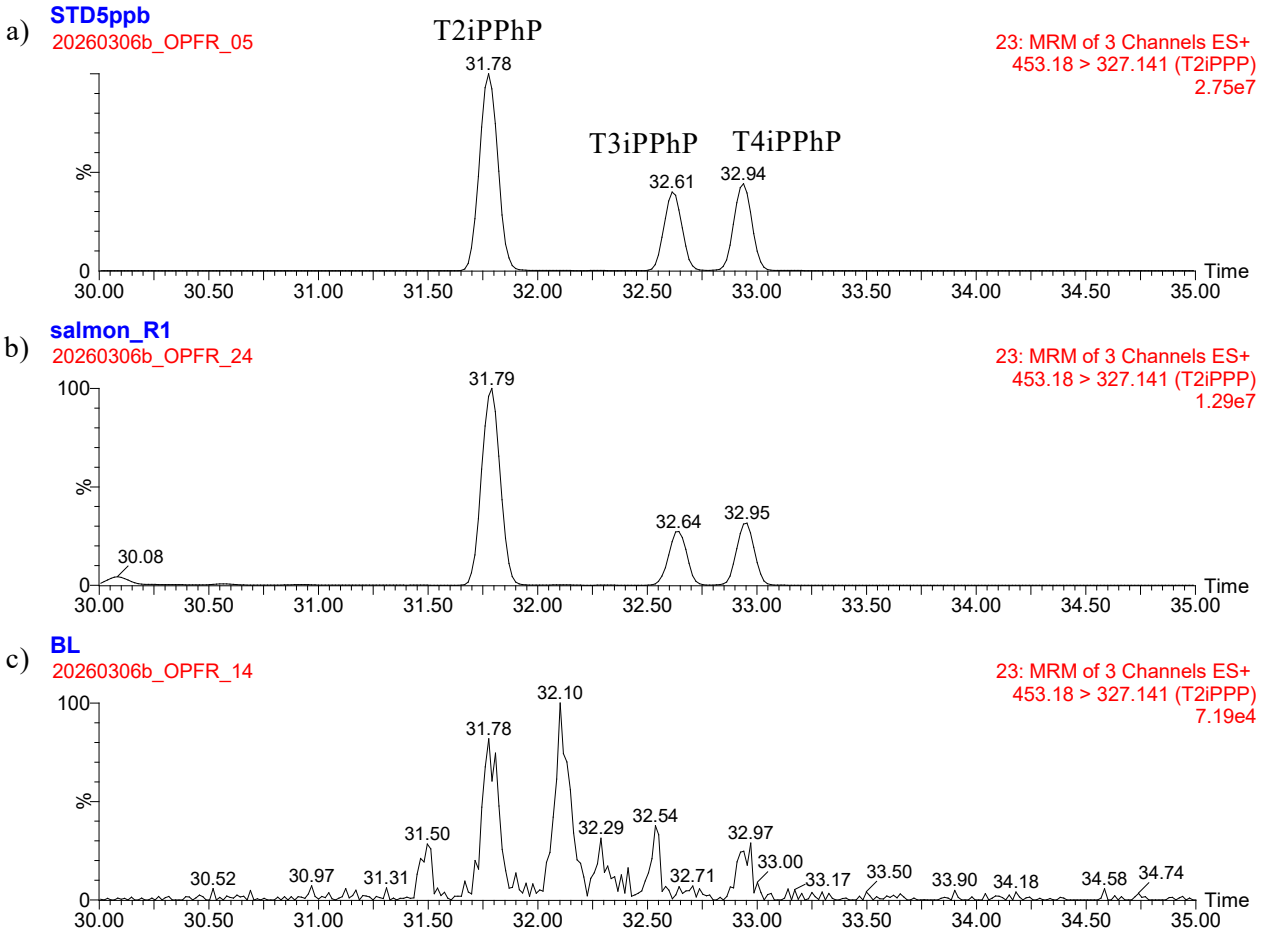


図 15 T2iPPhP、T3iPPhP、T4iPPhP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

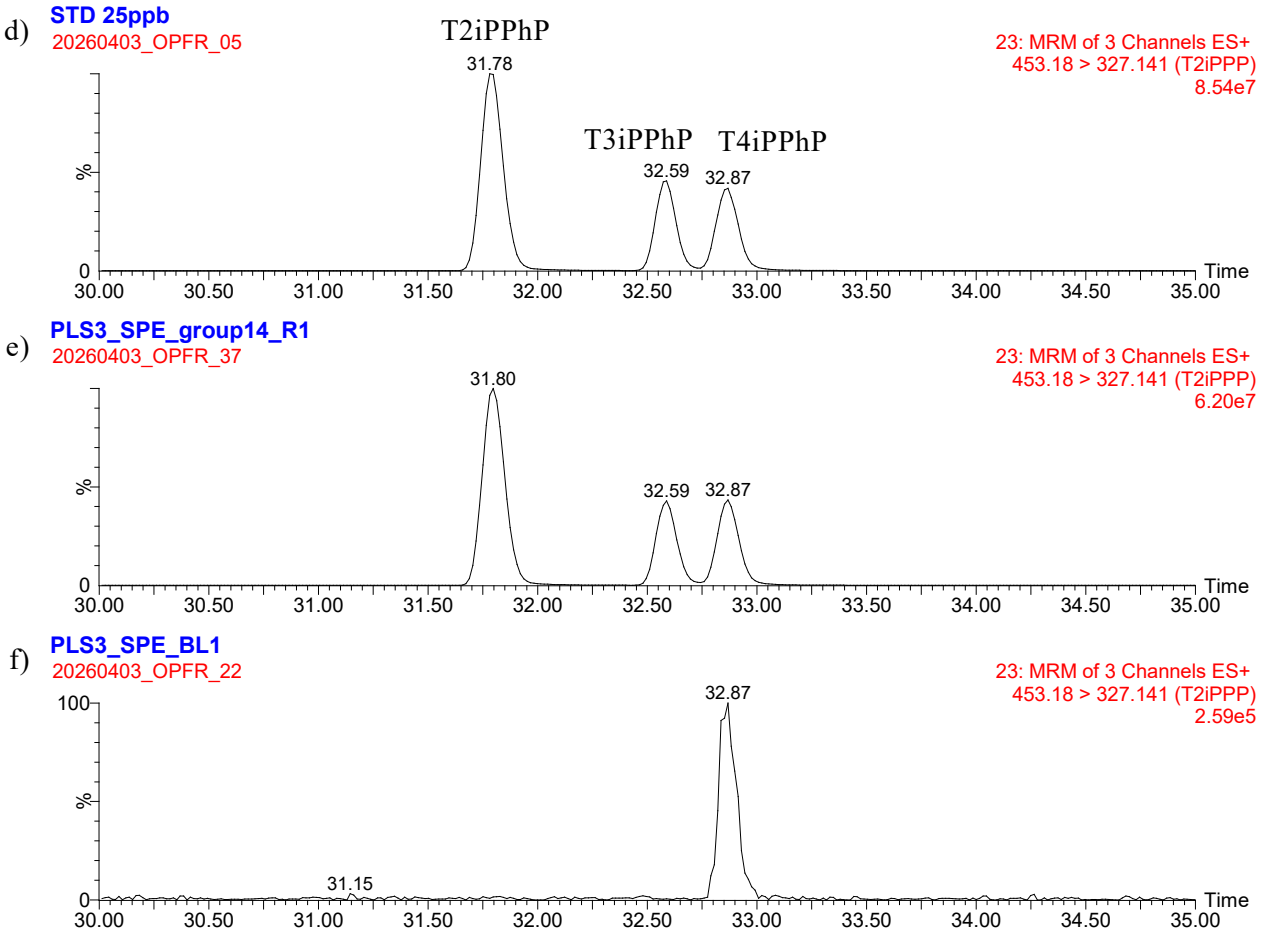


図 15 T2iPPhP、T3iPPhP、T4iPPhP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）

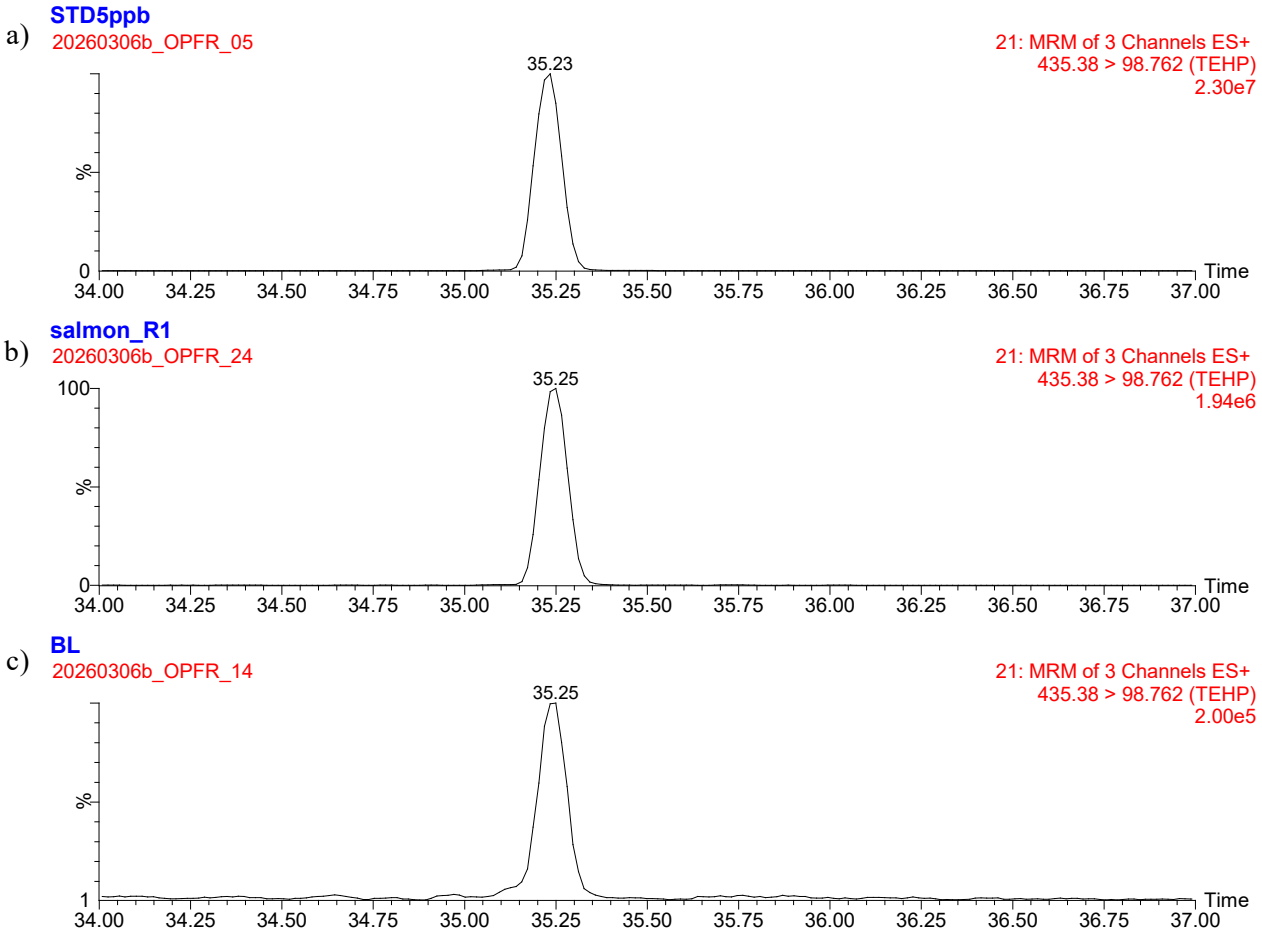


図 16 TEHP の SRM クロマトグラム

a)標準溶液（5 ng/mL）

b)添加回収試料（サーモン）

c)操作ブランク試料（サーモン、TD-1～13 群）

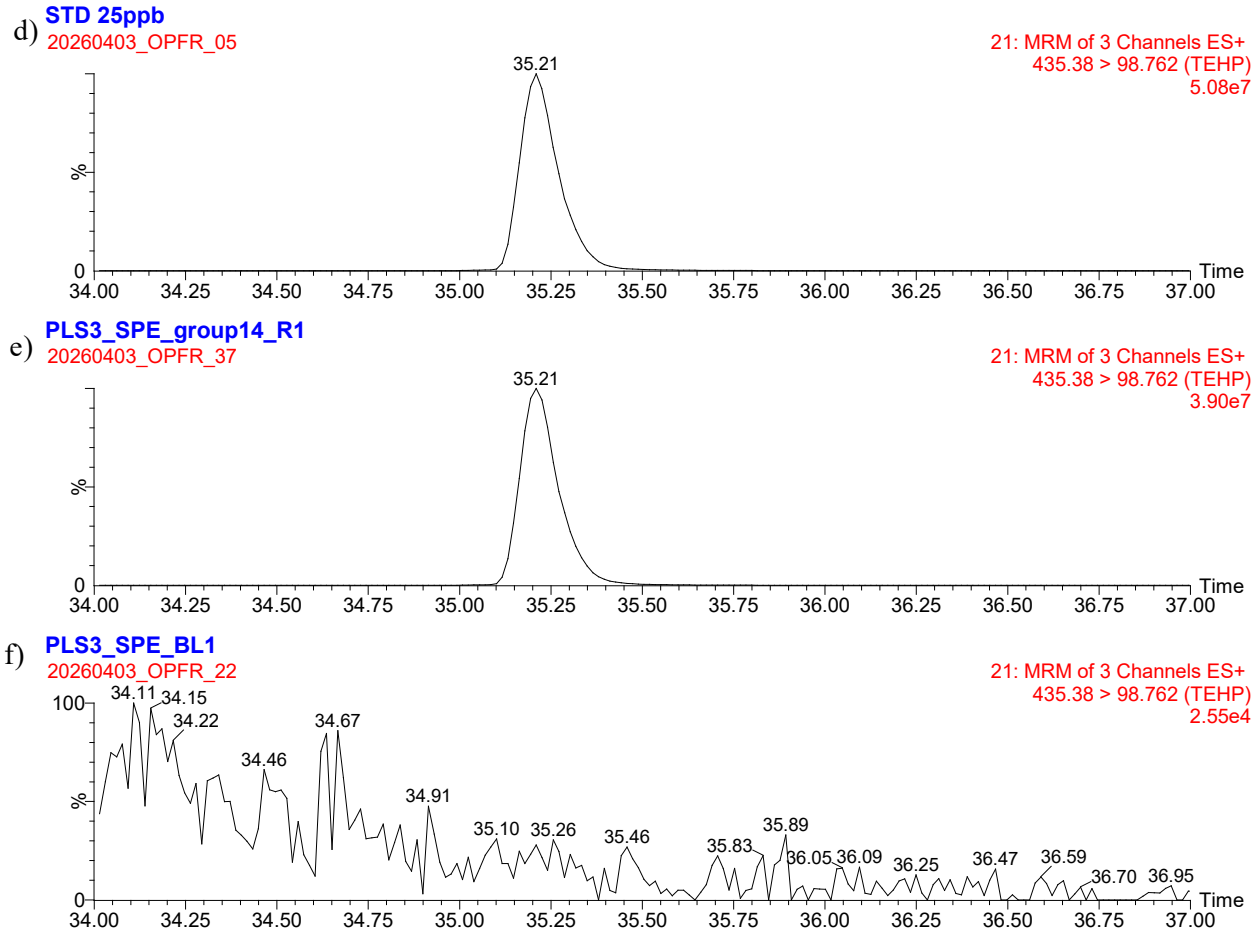


図 16 TEHP の SRM クロマトグラム（つづき）

d)標準溶液（25 ng/mL）

e)添加回収試料（ミネラルウォーター、固相抽出法）

f)操作ブランク試料（TD-14 群、固相抽出法）