

ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究

(2) 食品中のダイオキシン類等の有害化学物質に対する迅速測定法の開発

(2-3) 食品中ダイオキシン類および PCBs の迅速一斉分析法の検討

分担研究者 堀 智昭 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

食品試料中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニル (PCBs) の迅速一斉分析法の開発を行った。本研究課題で検討した分析法は主に4つの工程、①高速溶媒抽出法(ASE)による自動迅速抽出、②多層シリカゲルカラム及び活性炭シリカゲルカラムによる試料精製、③ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)による試料の迅速精製、④高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計(HRGC/HRMS)によるダイオキシン類・PCBsの異性体分離分析、から構成される。本年度は、確立した迅速一斉分析法の妥当性評価試験を行った。生鮮サケの均一化共通試料を調製し、迅速一斉分析法(開発法)とアルカリ分解・溶媒抽出法(従来法)で各々の分析操作を3回繰り返し、得られた定量値を比較した。その結果、両試験法から得られた PCBs 異性体(32種類)の定量値はよく一致した。また、繰り返し分析による定量値の再現性を、相対標準偏差(%)を指標として確認したところ、著しい定量値のばらつきは認められなかった。開発法の実用性を例証するために、生鮮カンパチの均一化試料を用いて全試験操作を試行した。ダイオキシン類・PCBsの計226化合物を同定し、ダイオキシン類の毒性評価値(Total TEQ濃度)及び総PCBs濃度等を算出した。

研究協力者

福岡県保健環境研究所

堀 就英、安武大輔、中川礼子

するものとなっている。一方、ガイドラインは収載の分析法と同等あるいはそれ以上の性能を有する方法は、分析精度を確保したうえでこれを使用できる、としている。

A.研究目的

厚生労働省が策定した「食品中のダイオキシン類の測定方法暫定ガイドライン」¹⁾(以下ガイドライン)は、食品に残留するダイオキシン類を同定・定量するための標準的な分析手法を示している。

ガイドラインは、分析時に達成すべき検出限界値(目標検出下限)を0.01~1pg/gと定めており、食品中に残留する微量のダイオキシン類を高い精度で同定することを求めている。収載されている分析手法はいずれも煩雑で工程が長く、測定値の最終確定まで長期間を要

これまでに我々は、食品中ダイオキシン類分析法の改良・迅速化を目的として検討を行った²⁾⁴⁾。まず、従来のダイオキシン類分析法で最も時間を要していた抽出工程の効率化を検討した。その結果、高速溶媒抽出法(ASE)を使用し、食品試料からダイオキシン類を迅速かつ精密に抽出する条件を確立した。従来の抽出方法では最長で1件あたり約20時間を要していたが、ASEの使用によって1件あたり約30分に短縮化した。また抽出に使用する溶媒量も1/3程度に少量化することが可能となった。同時に、ASEの抽出効率従来法に比べ

て同等またはそれ以上であることを確認した。すなわち「ガイドライン」に記載されている標準的抽出法に替えて ASE を使用しても、得られる分析値の信頼性・精密性は損なわれないことが示された。

本分担研究課題(平成 19 年度～)では、ASE による抽出対象物質をダイオキシン類の類縁化合物である PCBs (1～10 塩素化物、209 異性体)に拡大し、ダイオキシン類と PCBs を一斉に抽出、分析する方法の検討を開始した。厚生労働省は食品中 PCBs の残留基準値(暫定的規制値)を設けている(例 遠洋沖合魚介類:0.5 ppm、内海内湾魚介類:3 ppm)。ダイオキシン類と PCBs は化学構造が酷似し、化学的性質・毒性面においても共通点の多い食品汚染化学物質である。従来、これらの化学物質は、各々工程の長い煩雑な個別分析法によって測定されている。これらの化学物質を同時かつ迅速に分析することが可能になれば、当該物質による汚染実態調査の進展に寄与するほか、食品汚染事件が発生した場合など、速やかな原因究明が求められる場面においても有用と考えられる。

平成 19 年度は、一斉分析法の構築のための予備検討として、ダイオキシン類と PCBs の市販内部標準液に含まれる不純物の検定を行い、これらを各々混合して抽出時に使用しても分析精度上問題にならないことを確認した⁵⁾。

平成 20 年度は、ASE 抽出物の効率的な精製方法を検討し、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー及び GPC の操作条件を最適化した。また、機器分析条件を改良し、HRGC/HRMS 測定で 1～10 塩素化 PCBs 各異性体を注入回数 1 回、計測時間約 30 分で分離・定量する条件を確立した。生鮮魚介試料を用いて全分析操作を複数回繰り返して行ったところ、標準品添加回収率と測定値は良好な再現性を示した⁶⁾。

本年度は分析法開発の最終段階として、

分析法の妥当性評価試験を行った。共通の生鮮魚介類試料を従来法(アルカリ分解溶媒抽出法)と迅速一斉分析法で分析し、各々から得られる定量値が一致するか比較した。また各々の方法で分析を繰り返し行った際の定量値の再現性(ばらつき)を比較した。

B.研究方法

1.試料、試薬等

1.1 試料

福岡県内の食料品店でサケ及びカンパチの切り身を購入し、各々フードプロセッサーで十分に均一化して実験に使用した。

1.2 試薬

アセトン、ヘキサン、トルエン、ジクロロメタン、無水硫酸ナトリウムは関東化学(株)製のダイオキシン分析用を、シリカゲル類は和光純薬(株)のダイオキシン分析用を用いた。硫酸は和光純薬(株)製の有害金属測定用を使用した。

各種 PCBs 標準品並びにノナンは Wellington Laboratories 社製を使用した。検量線作成用として 68A-CVS (CS1 から CS5 の 5 本組試薬)を、クリーンアップスパイク用内部標準溶液として 68A-LCS を、またシリンジスパイク用内部標準溶液として 68A-IS をそれぞれ用いた。

PCDDs 及び PCDFs のクリーンアップスパイクには Wellington Laboratories 社製の NK-LCS-F をノナンで希釈して使用した。

1.3 器材

多層シリカゲルカラムは平成 20 年度の本分担研究報告書⁶⁾に記載の方法に従い、内径 1.5 cm、長さ約 30 cm のコック付きガラス管に各種充填剤を積層して調製した。活性炭シリカゲルによる試料の精製には関東化学(株)製の「活性炭分散シリカゲルリバーサカラム」を使用した。

2. 機器および使用条件

2.1 高速溶媒抽出装置

高速溶媒抽出にはダイオネクス社製の ASE-300 を使用した。抽出セルの容量は 99 mL であり、使用条件は抽出温度 150 °C、抽出溶媒はアセトン・ヘキサン(1:1)であった。その他の装置使用条件は平成 16 年度厚生労働科学研究報告書に記載の内容に従った²⁾。

2.2 ゲル浸透クロマトグラフ(GPC)

GPC システムを構成する製品(ポンプ、カラム等)の構成は平成 20 年度の本分担研究報告書⁶⁾に記載したものと同様であった。移動相にはアセトンを使用し、流速を 0.1 mL/min に設定した。GPC カラムオープンの温度は 40 °C、装置注入量は 50 μ L とした。

2.3 高分解能ガスクロマトグラフ・質量分析計(HRGC/HRMS)

HRGC/HRMS は Agilent 6890/Micromass AUTOSPEC ULTIMA を使用した。PCBs の測定には関東化学(株)製の HT8-PCB を、PCDD/Fs 及び non-ortho PCBs の測定には SP-2331(スペルコ社製)及び BPX-DXN(SGE 社製)の各キャピラリーカラムを使用した。

PCBs の機器分析条件は、平成 20 年度の本分担研究において確立した PCBs 全異性体分析法に従った⁶⁾。本条件によって検量線作製用標準溶液 68A-CS3 のノナン希釈液を測定し、相対感度係数(RRF)を算出した。また 209 種類の全 PCBs 異性体(ネイティブ体)を含む溶液及び文献の情報⁷⁾を用い、PCBs 異性体のピーク同定を行った。

3. 実験操作

3.1 ダイオキシン類・PCBs の一斉迅速分析法

平成 20 年度の本分担研究報告⁶⁾に記載した方法に従って実施した。分析法のフロー図を図 1 に示した。

本フロー図に基づき、サケのホモジネートを用いて PCBs の異性体分離分析を行った(試行回数:3)。また、カンパチ試料を用いて全試験操作を行い(試行回数:1)、全 PCBs 異性体(209 種化合物)及び 2,3,7,8-PCDD/Fs(17 種化合物)計 226 化合物を同定・定量した。

試料約 25 g を 250 mL 容のテフロン性遠沈管に正確に量り取り、PCBs 及び PCDD/Fs の各クリーンアップスパイク(68A-LCS 及び NK-LCS-F)を添加した(試行例数:3)。内部標準物質の添加量は、¹³C ラベル化 2,3,7,8-PCDD/Fs においては各 50 pg(OCDD/F は 100 pg)、¹³C ラベル化 PCBs は各 5,000 pg とした。なお、これらの異なる内部標準溶液を組み合わせる抽出に使用しても、不純物の干渉等による分析精度への影響は生じないことをあらかじめ確認している⁵⁾。

ASE で調製した抽出液を減圧濃縮し、濃縮物をあらかじめ風袋を量った 100 mL 容ビーカーに移してクリーンベンチ内に放置し、溶媒成分を蒸発・乾固させた。恒量に達したことを確認し、重量法により粗抽出脂肪量を求めた。

多層シリカゲルカラムによる精製は、平成 20 年度の本分担研究で確立した改良型カラムを使用して行った⁶⁾。多層シリカゲルカラムクロマトから得られた溶出液を減圧濃縮後、ヘキサンで 10 mL に定容した。ここで溶出液を二分し、2 mL(試験品約 5 g 相当)を PCBs 測定試料の調製に、残り 8 mL(試験品約 20 g 相当)を 2,3,7,8-PCDD/Fs 及びノンオルト PCBs 測定試料の調製に用いた。

前者(2 mL)をスピッツ管に分取し、窒素ガス airflow を穏やかに吹き付けて濃縮・乾固した。残留物を少量のアセトンで溶解し、全量 500 μ L としたうちの 50 μ L を GPC に注入した。GPC で分離された PCBs 画分は 1.5 mL 容の濃縮用バイアルをリザーバーとして回収した。バイアルをクリーンベンチ内で室温常圧下に放置して濃縮し、シリンジスパイク及びノナンを添加し、全量約 50 μ L 中の 1 μ L を

HRGC/HRMS に注入した。

後者(8 mL)は活性炭分散シリカゲルリバー
スカラムに負荷して精製した。本カラム精製で
得られたトルエン画分を濃縮し、シリンジスパ
イクを添加し、ダイオキシン類 PCDD/Fs 及び
2,3,7,8-PCDD/Fs の 17 種化合物とノンオルト
PCBs の 4 種化合物の分析試料とした。最終
測定試料の液量は約 25 μL であり、このうち
の 1 μL を HRGC/HRMS に注入して測定し
た。

3.2 アルカリ分解・溶媒抽出法(従来法)による の PCBs 異性体分離分析

平成 10 年に環境庁(当時)が策定した「外因
性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル
(水質、底質、水生生物)」に記載された方法
に準じ、魚介類試料中の PCBs 異性体分離分
析を実施した。操作手順は以下の通りであっ
た。

3.1 項で使用したものと同一サケのホモジネ
ート約 20 g を 250 mL 容のテフロン性遠沈管
に正確に量り取り、PCBs のクリーンアップスパ
イク(68A-LCS)を添加した(試行回数:3)。添
加量は PCBs 各化合物につき 4,000 pg とした。
量り取った試料に 1N KOH/エタノール溶液
100 mL を加え、室温で 1 時間振とうしてアル
カリ分解を行った。

アルカリ分解後の溶液を 2,500 rpm で 10 分
間遠心分離し、得られた上清を 300 mL 容の
分液ロートに移し入れ、ヘキサン洗浄水 100
mL を添加し、十分に混和した。遠心分離後の
残渣にヘキサン 50 mL を加え、約 10 分間超
音波抽出を行った後、遠心分離を行った。上
清のヘキサン相をさきの分液ロートに合わせ、
10 分間振とう抽出を行った後、静置して有機
層を分離させた。

有機相を別の 300 mL 容の分液ロートに移
し、残った水相にヘキサン 50 mL を加え、振
とう抽出を繰り返した。すべての有機相を合
わせた後、ヘキサン洗浄水 100 mL を加え穏や

かに振り混ぜ洗浄した。有機相を無水硫酸ナ
トリウムで脱水し、ロータリーエバポレーター
で約 5 mL まで減圧濃縮した。濃縮液を 50 mL
容のガラス製共栓遠沈管に移し、硫酸 20 mL
を添加して穏やかに振り混ぜ、一夜静置した
(硫酸処理)。

次に有機相を多層シリカゲルカラムクロマト
グラフィーに負荷し精製した。多層シリカゲル
カラムによる精製は、3.1 項と同様に改良型カ
ラムを使用して行った。得られた溶出液を減
圧濃縮してシリンジスパイク(68A-IS)を添加し、
最終検液の全量約 1 mL のうち 1 μL を
HRGC/HRMS に注入して分析した。

C. 研究結果及び考察

1. 一斉迅速分析法と従来法との定量値の比 較

図 1 の試験フローに従って同一のサケ試料
の分析を 3 回繰り返して行った。ASE の抽出
物より重量法で求めた粗脂肪含量は 14.4~
15.2% の範囲であった。昨年度に ASE を同じ
条件で使用した際の粗脂肪含量は、カンパチ
試料(試行回数 3)で 4.6~5.7 %、粉末ミルク
試料(試行回数 5)で 23.5~25.0 % であつた。
これらの抽出物を硫酸処理して改良多層シリ
カゲルカラムに負荷し、10 %ジクロロメタン含
有ヘキサンで溶出した場合、いずれも充填剤
の着色は充填剤層に保持されていた⁹⁾。

今回のサケ抽出物の精製においても、カ
ラム溶出時の着色は充填剤層に留まり、カ
ラムの破過に伴う妨害成分の溶出は特に認められ
ず、改良カラムの充填剤量と溶出溶媒の極性
選択は適切なものと考えられた。

また、サケ抽出物の硫酸処理操作におい
ては、硫酸層の一部が強粘性の褐色タール状と
なり、ヘキサン層との分離が不十分な現象が
認められた。硫酸処理前にヘキサンで抽出脂
肪を溶解する際の液量(希釈率)がやや不足
していたことが原因と考えられる。

サケ抽出物を HRGC/HRMS で測定して得

られた PCBs の 1~10 塩素化物のクロマトグラムの一例を図 2~6 に示した(内部標準物質のクロマトグラムは省略している)。ベースラインの変動や各ピーク形状に妨害物の影響は認められず、良好なクロマトグラムが得られた。多層シリカゲルカラムクロマト後の溶出液を濃縮乾固した際には、試料由来の油状成分の残存が明瞭に認められた。しかし GPC 精製後の溶出液には当該成分は目視できず、GPC によって測定妨害成分を効果的に分離・除去できたと考えられた。

サケ分析時の PCBs 内部標準物質の 26 化合物の添加回収率を表 1 に示す。平均添加回収率は 23~75 % の範囲であった。昨年度に本分担研究で実施したカンパチ試料分析時の平均添加回収率(48~117 %、試行回数 3)に比べて総じて低下していた。先に述べた硫酸処理操作において硫酸相とヘキサン相の分離が不十分であったことが、全般的な低回収率の一因として考えられる。また、平均回収率の最も低かった化合物は質量数が最も小さい 1 塩素化物の ¹³C-2-CB(#1)であり、減圧濃縮や窒素ガス気流の濃縮時に特に揮散・損失しやすかったものと考えられる。

表 2 に PCBs の 1~10 塩素化物の定量結果を示す。迅速一斉分析法とアルカリ分解・溶媒抽出法から得られた定量値を比較した。定量値は、クリーンアップスパイクに対応する 26 種化合物、ならびに環境試料や食品試料から検出される主要な異性体 6 種(Indicator PCBs)を加えた計 32 種類の化合物について示した。2,2'-diCB(#4)と 4,4'-diCB(#15)の両化合物は、いずれの試験法においても不検出であった。結果として、各々の方法から得られた PCBs 化合物の定量値は総じてよく一致しており、迅速一斉分析法を使用して従来法と同等の定量値が得られた。定量値のくり返し再現性の指標となる相対標準偏差を算出したところ、従来法は 1~34 % の範囲に、迅速一斉分析法では 2~18 % の範囲となり、両者で

著しい定量値のばらつきは認められなかった。迅速一斉分析法では相対標準偏差が 20 % を超える異性体が皆無であり、この点では従来法より優れた再現性を示していた。

また、従来法に対する一斉迅速分析法の定量値(平均値)の比を算出すると、0.75~2.3 の範囲(平均 1.1)であった。例えば、一斉迅速分析法における 4-mono-CB(#3)の定量値(平均値)は、従来法よりも 2.3 倍高くなっていた。ASE は抽出効率に優れた抽出法であり、緑色野菜中ダイオキシン類の抽出に適用した場合、従来法(溶媒振とう抽出法)に対して定量値が高くなる傾向が認められている。このとき、従来法に対する定量値の比は 1.1~3.2 の範囲であった²⁾。同様に、マグロ試料中ダイオキシン類の抽出に ASE を適用した場合、従来法(アルカリ分解・溶媒抽出法)に対する定量値の比は 0.91~2.0 の範囲となり、ASE の抽出効率の優位性は振とう抽出と比べた場合より低くなる結果が得られた³⁾。今回の従来法と迅速一斉分析法との定量値の比較結果は、アルカリ分解法との比較を行ったマグロのダイオキシン類分析例と類似していた。アルカリ分解・溶媒抽出法では試料組織(マトリックス)を粥状に分解して行うため、抽出溶媒がマトリックスによく浸透して抽出効率が高く、ASE との効率差が現れにくいものと考えられる。

表 2 に表示した 32 種化合物の定量値の総和を求め、「総 PCBs 濃度」として試験法間の比較を行った。従来法における総 PCBs 濃度(全重量あたり)は 26.1~26.4 ng/g(平均 26.5 ng/g)、同様に迅速一斉分析法では 25.3~27.2 ng/g(平均 26.0 ng/g)となり、両者でよく一致していた。

以上のように、迅速一斉分析法によって得られる PCBs 異性体の定量値は、従来法で得られる値とよく一致し、繰り返し再現性の指標となる相対標準偏差(%)に著しい相違は認められなかった。また、「総 PCBs 濃度」によって基準値が定められる食品規格検査においても、

本方法の適用性が示唆された。

2. 迅速一斉分析法による全 PCBs 異性体の同定及びダイオキシン類の毒性評価

本分担研究で確立した迅速一斉分析法の全試験操作を、カンパチ試料を用いて試行した(試行回数 1)。ここでは、HRGC/HRMS 測定結果を詳細に解析し、全 PCBs 異性体並びにダイオキシン類として毒性評価の対象となる全化合物の定量を行った。これらの結果を表 3 に示す。なお、カンパチ試料分析時の内部標準品添加回収率は、GPC 精製から得られた PCBs 画分において 52~103 %、活性炭リバーサラム精製から得られたダイオキシン画分で 70~86 %の範囲であり、いずれもガイドラインでダイオキシン類分析時の回収率の目安とされる 40~120 %の範囲内の良好な値が得られた。

表 3-(1)は 1 塩素化から 10 塩素化物までの各 PCBs 異性体を定量した結果である。表 3-(2)には、2,3,7,8-PCDD/Fs の 17 種化合物及びノンオルト PCBs の 4 種化合物の同定結果を示した。また、表 3-(3)には、各 PCBs 異性体濃度より求めた塩素置換数ごとの PCBs 濃度(Total MoCBs~DeCB)、総 PCBs 濃度(Total PCBs)を算出して示した。さらに(1)の PCBs 異性体分析結果から、8 種類のモノオルト PCBs 濃度を抜き出し、(2)の結果と総和してダイオキシン類濃度(Total dioxins)を算出した。

表中に示した算出値はすべて湿重量(全重量)あたりの濃度である。本迅速一斉分析法では操作の過程で抽出試料の脂肪含量を把握している。カンパチ試料の脂肪含量は表 3-(3)に示すように 4.9 %であった。この値を用いて各定量値を脂肪重量あたりの濃度に換算することも可能である。

以上の結果、本方法の適用によって食品試料中のダイオキシン類と PCBs を迅速かつ同時に抽出し、合計 226 種類の化合物の濃度を

同定して、様々な濃度指標を得ることが可能であった。

D. 結論

平成 19 年度以降、段階的に検討を実施した結果、ASE を使用して食品中のダイオキシン類と PCBs を迅速かつ一斉に抽出し、系統的に分析できる方法を確立した。過去の研究において、食品中のダイオキシン類抽出に ASE を使用することの妥当性が示されている^{2)~4)}。従って本研究では、ダイオキシン類と同じ抽出条件を PCBs 抽出に適用し、PCBs 分析の従来法と同等の結果が得られるかに重点をおき、検討した。PCBs の化学構造や化学的性質はダイオキシン類と類似点が多いが、4~8 塩素化物を抽出対象とするダイオキシン類に対し、1~10 塩素化物の PCBs はダイオキシン類よりも質量数の範囲が広く、異性体数も多岐に亘るため、ダイオキシン類の抽出条件がそのまま適用できるかは未知であった。

前年度までに、ダイオキシン類と PCBs の一斉分析のための前処理法を構築した。今回、魚介類のサケをモデル試料として、動物性食品中 PCBs の標準的分析法であるアルカリ分解・溶媒抽出法との比較試験を行ったところ、両者の定量値は良く一致していた。ASE による食品中ダイオキシン類の抽出条件(抽出温度:150℃、抽出溶媒:アセトン・ヘキサン(1:1))を適用して、ダイオキシン類と同時に PCBs を効率的に抽出し、これらの異性体を分離同定することが可能であった。

従来のダイオキシン類や PCBs の分析法は工程が長く、煩雑で測定結果を得るまでに長期間を要することが課題とされてきた。標準的な試験設備環境(人員 1 名)を想定すると、10 試料の食品試料について、ダイオキシン類の分析試料を調製するのに従来法では概ね 7 日間以上が必要である。同じ食品試料について PCBs 測定を実施するとすれば、別途煩雑な抽出操作から開始せざるを得ず、さらに期

間を要することになる。これに対し、ダイオキシン類分析の抽出に ASE に用いると、試料調製の全工程をほぼ 4 日間で完了することが可能であった⁴⁾。さらに本迅速一斉分析法を使用すると、1 回の抽出操作で効率的にダイオキシン類と PCBs の測定試料を各々調製することができる。

また、ガイドラインでは動物性食品の分析時に脂肪含量を併せて測定することが求められている。従来のアルカリ分解・溶媒抽出法では、脂肪含量を把握するための抽出操作を別途必要としていたが、本迅速一斉分析法では脂肪含量の測定が工程に含まれているため、効率的に分析を行うことができる。

本研究結果は、食品中のダイオキシン類・PCBs の迅速一斉分析法として、ASE の有用性を示すものである。本抽出法を GPC など自動化した精製工程と組み合わせることで、多検体に及ぶ食品試料分析を効率的に進めることが可能となり、当該調査研究の推進ならびに日常的な検査業務の効率化に寄与すると考えられる。

E. 参考文献

- 1) 厚生労働省:「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。
- 2) 平成 16 年度厚生労働科学研究補助金研究報告書:「ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究(3)食品中ダイオキシン類分析の迅速化・信頼性向上に関する研究(3-2)食品中ダイオキシン類分析における高速溶媒抽出法の応用に関する研究」
- 3) 平成 17 年度厚生労働科学研究補助金研究報告書:「ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究(3)食品中ダイオキシン類分析の迅速化・信頼性向上に関する研究(3-2)食品中ダイオキシン類分析における高速溶媒抽出法の応用に関する研究」
- 4) 平成 18 年度厚生労働科学研究補助金研究報告書:「ダイオキシン類による食品汚染

実態の把握に関する研究(3)食品中ダイオキシン類分析の迅速化・信頼性向上に関する研究(3-2)食品中ダイオキシン類分析における高速溶媒抽出法の応用に関する研究」

- 5) 平成 19 年度厚生労働科学研究補助金研究報告書:「ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究(2)食品中のダイオキシン類等の有害化学物質に対する迅速測定法の開発(2-3)食品中ダイオキシン類および PCBs の迅速一斉分析法の検討」
- 6) 平成 20 年度厚生労働科学研究補助金研究報告書:「ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究(2)食品中のダイオキシン類等の有害化学物質に対する迅速測定法の開発(2-3)食品中ダイオキシン類および PCBs の迅速一斉分析法の検討」
- 7) 松村千里、鶴川正寛、中野 武、江崎達哉、大橋 眞:キャピラリーカラム (HT8-PCB) による PCB 全 209 異性体の溶出順位. 環境化学, **12**, (2002) 855-865.

F. 研究業績

1. 論文発表

Hori, T., Yasutake, D., Ashizuka, Y., Kajiwara, J., Nakagawa, R., Yoshimura, T., and Tsutsumi, T.: Simultaneous determination of dioxins and all PCB isomers in food samples using accelerated solvent extraction and gel permeation chromatography. *Organohalogen Compounds*, **71** (2009) 2578-2582.

2. 学会発表

堀 就英、安武大輔、中川礼子、堤 智昭:食品中ダイオキシン類及び PCBs 全異性体の迅速一斉分析法の検討. 第 46 回全国衛生化学技術協議会年会(2009.11).

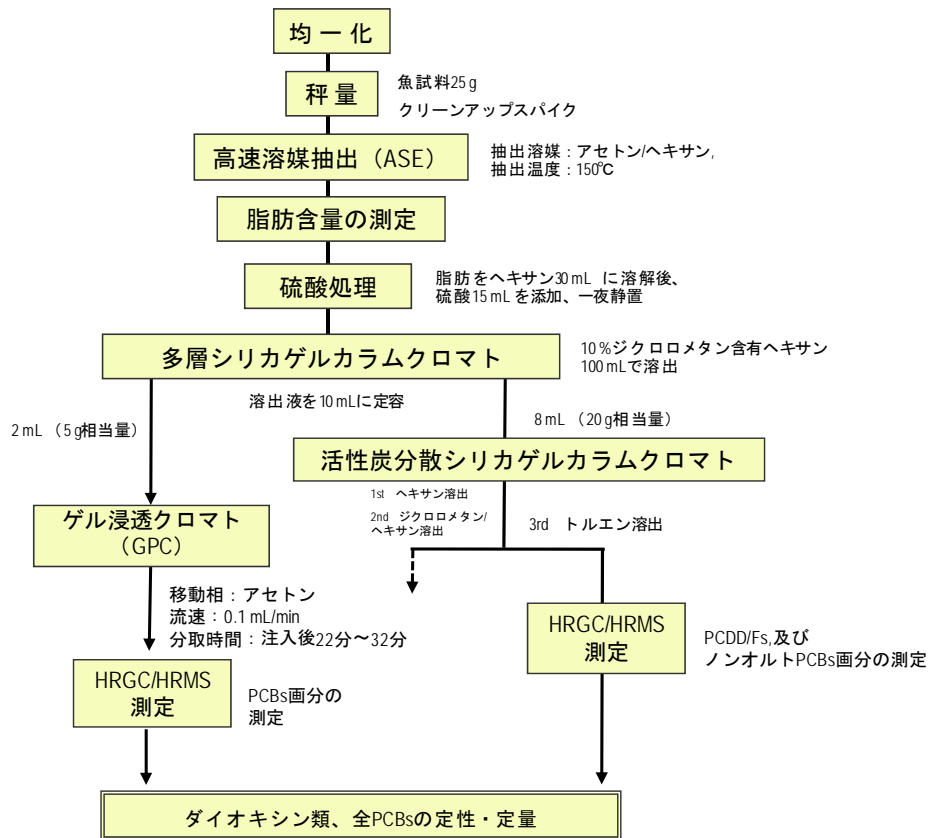


図1 食品中ダイオキシン類・PCBsの迅速一斉分析フロー

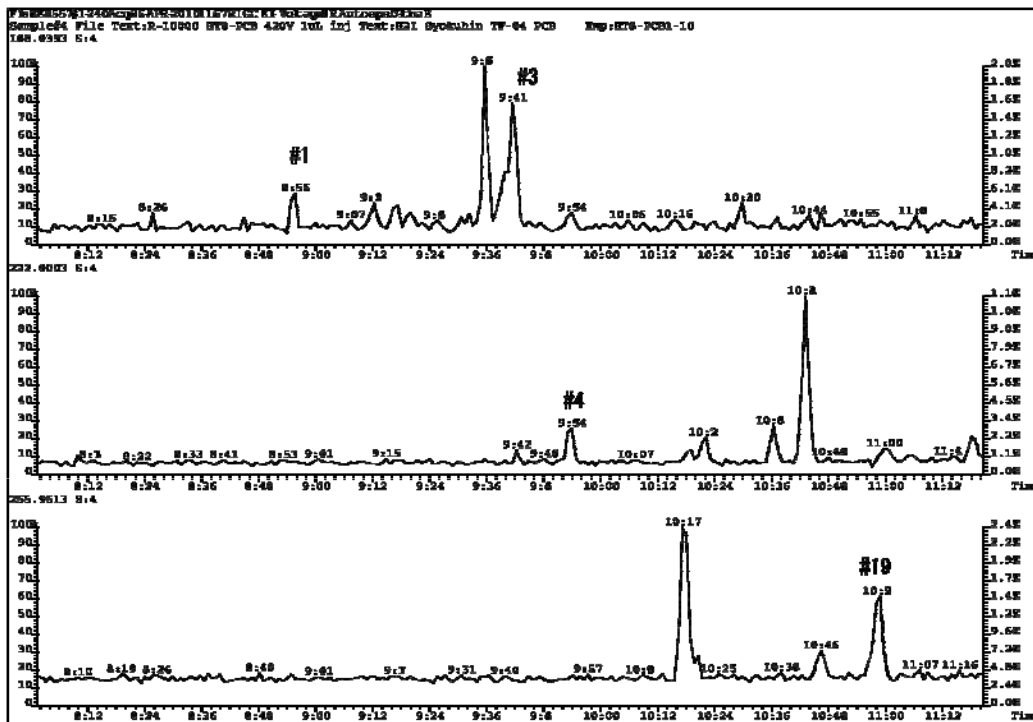


図2 HRGC/HRMSにおける魚(サケ)抽出物のPCBs分析クロマトグラム(保持時間8分00秒～11分20秒)。上段より順に1塩化物, 2塩化物, 3塩化物。

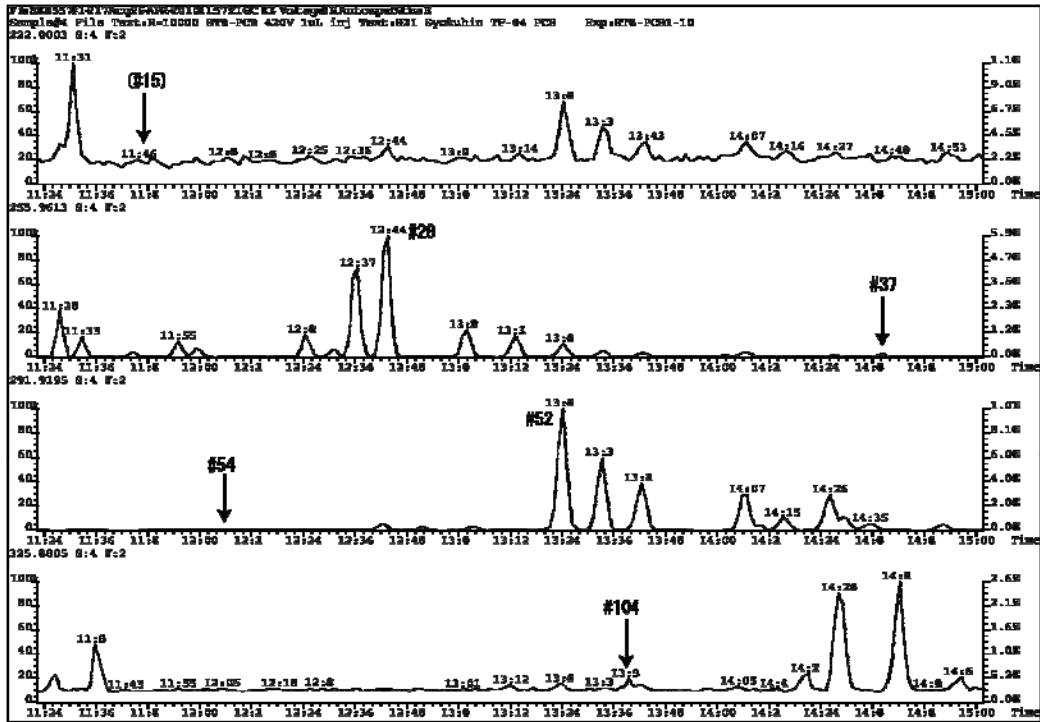


図3 HRGC/HRMSにおける魚（サケ）抽出物のPCBs分析クロマトグラム（保持時間11分20秒～15分01秒）。上段より順に2塩化物，3塩化物，4塩化物，5塩化物。

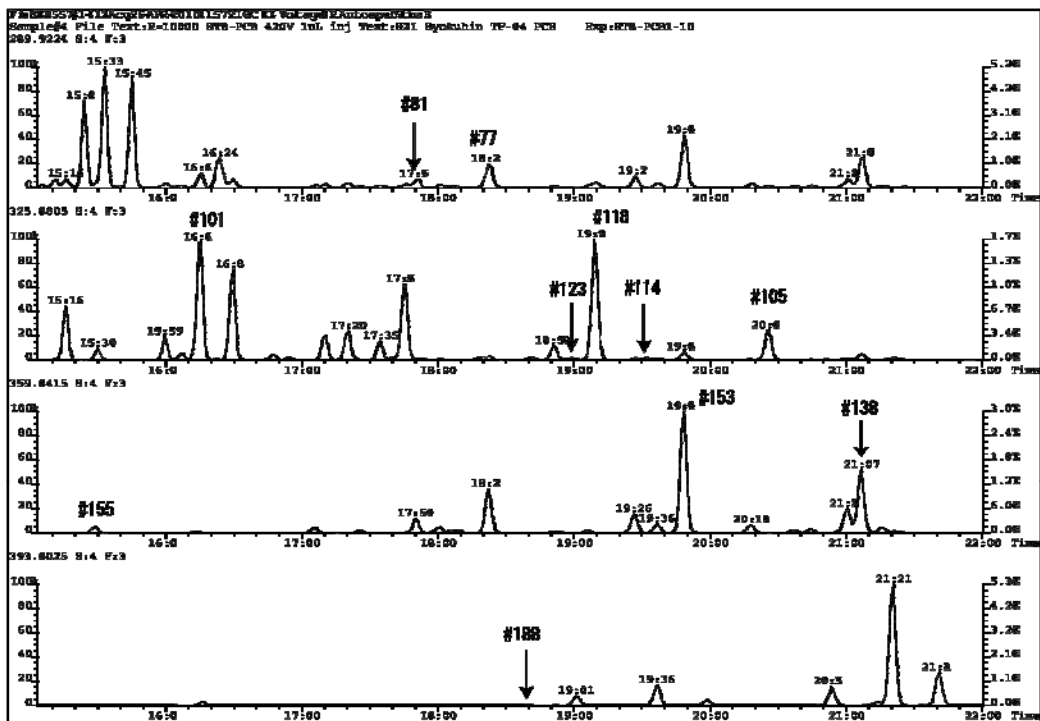


図4 HRGC/HRMSにおける魚（サケ）抽出物のPCBs分析クロマトグラム（保持時間15分01秒～22分00秒）。上段より順に4塩化物，5塩化物，6塩化物，7塩化物。

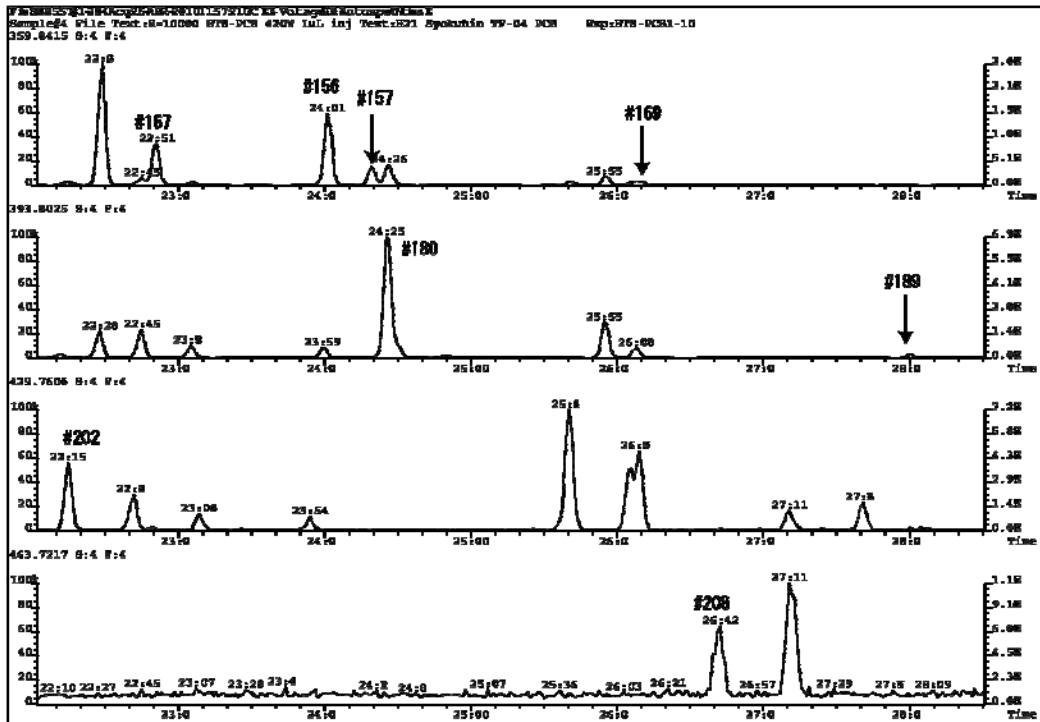


図5 HRGC/HRMSにおける魚（サケ）抽出物のPCBs分析クロマトグラム（保持時間22分00秒～28分30秒）。上段より順に6塩化物，7塩化物，8塩化物，9塩化物。

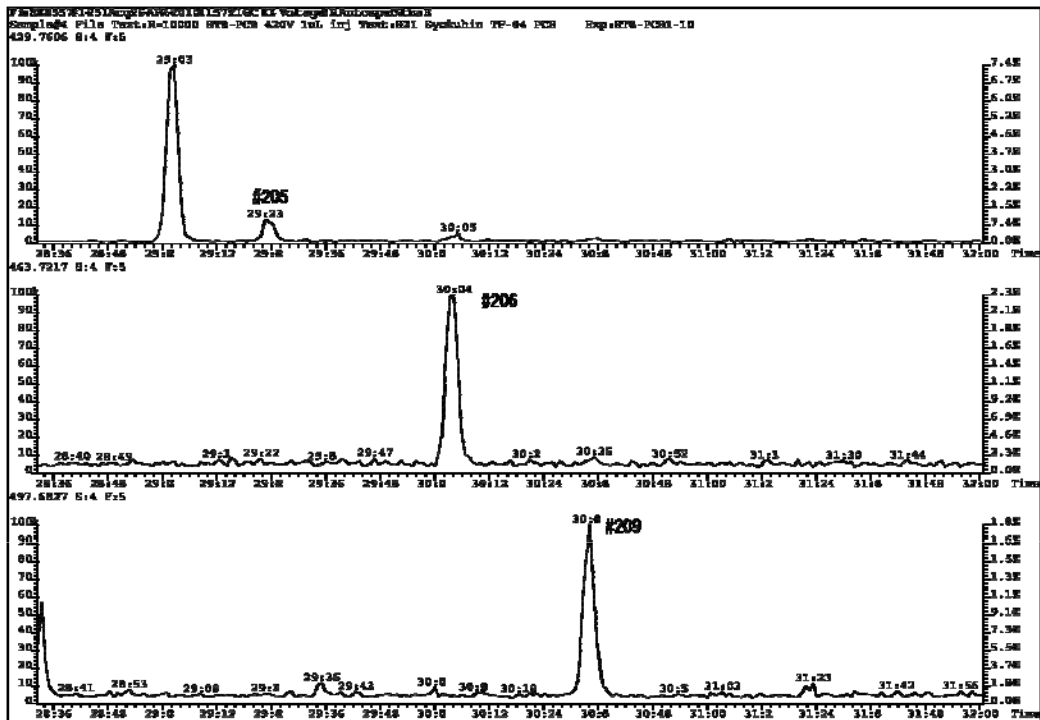


図6 HRGC/HRMSにおける魚（サケ）抽出物のPCBs分析クロマトグラム（保持時間28分30秒～32分00秒）。上段より順に8塩化物，9塩化物，10塩化物。

表 1 魚試料（サケ）分析における PCBs26 種標準品の添加回収率.

化合物	回収率(%)			平均値 (%)	標準偏差	相対標準 偏差(%)
	1回目	2回目	3回目			
¹³ C-2-CB(#1)	14	33	32	26	11	42
¹³ C-4-CB(#3)	28	39	37	35	6	17
¹³ C-2,2'-diCB(#4)	27	36	33	32	5	14
¹³ C-4,4'-diCB(#15)	32	32	27	30	3	10
¹³ C-2,2',6-triCB(#19)	30	32	29	31	2	6
¹³ C-3,4,4'-triCB(#37)	51	49	48	49	1	3
¹³ C-2,2',6,6'-tetraCB(#54)	35	34	30	33	2	7
¹³ C-3,3',4,4'-tetraCB(#77)	42	38	39	40	2	5
¹³ C-3,4,4',5-tetraCB(#81)	39	41	40	40	1	2
¹³ C-2,2',4,6,6'-pentaCB(#104)	31	18	20	23	7	32
¹³ C-2,3,3',4,4'-pentaCB(#105)	46	41	40	42	3	7
¹³ C-2,3,4,4',5-pentaCB(#114)	43	39	39	40	2	6
¹³ C-2,3',4,4',5-pentaCB(#118)	44	41	41	42	2	4
¹³ C-2',3,4,4',5-pentaCB(#123)	43	39	39	41	2	5
¹³ C-2,2',4,4',6,6'-hexaCB(#155)	36	31	27	31	5	15
¹³ C-2,3,3',4,4',5-hexaCB(#156)	44	41	39	42	3	6
¹³ C-2,3,3',4,4',5'-hexaCB(#157)	48	44	43	45	3	6
¹³ C-2,3',4,4',5,5'-hexaCB(#167)	43	41	41	41	1	3
¹³ C-3,3',4,4',5,5'-hexaCB(#169)	46	42	44	44	2	4
¹³ C-2,2',3,4',5,6,6'-heptaCB(#188)	45	37	34	38	6	14
¹³ C-2,3,3',4,4',5,5'-heptaCB(#189)	70	61	62	64	5	8
¹³ C-2,2',3,3',5,5',6,6'-octaCB(#202)	52	43	43	46	5	12
¹³ C-2,3,3',4,4',5,5',6-octaCB(#205)	86	70	70	75	9	12
¹³ C-2,2',3,3',4,4',5,5',6-nonaCB(#206)	47	38	33	40	7	18
¹³ C-2,2',3,3',4,5,5',6,6'-nonaCB(#208)	71	61	61	64	6	9
¹³ C-decaCB(#209)	66	48	48	54	10	19

表 2 魚試料（サケ）中の 32 種 PCBs 異性体の濃度. アルカリ分解・溶媒抽出法による測定結果との比較.

	アルカリ分解・溶媒抽出法(従来法)						ダイオキシン類・PCBsの迅速一斉分析法(開発法)					
	濃度 (pg/g, 全重量あたり)			平均値 (pg/g)	標準偏差	相対標準 偏差(%)	濃度 (pg/g, 全重量あたり)			平均値 (pg/g)	標準偏差	相対標準 偏差(%)
	1回目	2回目	3回目				1回目	2回目	3回目			
2-monoCB(#1)	7.1	8.8	8.5	8.1	0.9	11	8.8	7.7	7.6	8.0	0.69	9
4-monoCB(#3)	8.4	9.0	11	10	1.6	17	23	24	18	22	3.6	16
2,2'-diCB(#4)	ND	ND	ND	-	-	-	ND	ND	ND	-	-	-
4,4'-diCB(#15)	ND	ND	ND	-	-	-	ND	ND	ND	-	-	-
2,2',6-triCB(#19)	31	20	19	24	6.6	28	41	38	39	39	1.2	3
2,4,4'-triCB(#28)	1200	1200	990	1100	130	11	1000	1100	1000	1000	44	4
3,4,4'-triCB(#37)	26	22	12	20	6.7	34	21	19	17	19	2.3	12
2,2',6,6'-tetraCB(#54)	3.8	4.6	3.1	3.8	0.8	20	4.5	3.9	4.3	4.2	0.33	8
2,2',5,5'-tetraCB(#52)*	1900	2000	1900	2000	33	2	2000	1900	1900	1900	83	4
3,3',4,4'-tetraCB(#77)	100	100	120	110	8.8	8	160	150	180	160	14	9
3,4,4',5-tetraCB(#81)	18	17	15	17	1.7	10	41	33	28	34	6.3	18
2,2',4,5,5'-pentaCB(#101)**	3000	3300	3100	3200	90	3	3600	3300	3400	3400	120	3
2,2',4,6,6'-pentaCB(#104)	5.2	4.5	6.3	5.3	0.9	17	6.0	6.9	7.3	6.7	0.65	10
2,3,3',4,4'-pentaCB(#105)	990	1100	1000	1000	31	3	1000	1000	1100	1000	22	2
2,3,4,4',5-pentaCB(#114)	79	77	79	78	1.0	1	67	90	72	76	12	16
2,3',4,4',5-pentaCB(#118)	3400	3500	3400	3400	58	2	3600	3500	3700	3600	83	2
2',3,4,4',5-pentaCB(#123)	58	52	56	56	3.0	5	55	55	61	57	3.3	6
2,2',3,4,4',5'-hexaCB(#138)	3800	3800	3900	3800	82	2	3700	3700	4200	3900	320	8
2,2',4,4',5,5'-hexaCB(#153)***	7400	7400	7600	7500	130	2	7000	7000	8000	7300	600	8
2,2',4,4',6,6'-hexaCB(#155)	270	290	290	290	10	4	290	290	310	300	8.4	3
2,3,3',4,4',5-hexaCB(#156)	350	370	350	360	13	4	370	340	360	360	16	4
2,3,3',4,4',5'-hexaCB(#157)	110	120	100	110	8.6	8	110	93	95	98	8.1	8
2,3',4,4',5,5'-hexaCB(#167)	240	260	300	270	28	11	230	220	220	220	5.8	3
3,3',4,4',5,5'-hexaCB(#169)	7.0	7.4	13	9.0	3.1	34	12	15	12	13	2.0	15
2,2',3,4,4',5,5'-heptaCB(#180)	2700	2900	2800	2800	110	4	2100	2000	2100	2100	35	2
2,2',3,4',5,6,6'-heptaCB(#188)	13	11	12	12	1.1	9	14	15	13	14	1.0	8
2,3,3',4,4',5,5'-heptaCB(#189)	38	42	43	41	2.4	6	42	37	32	37	4.9	13
2,2',3,3',5,5',6,6'-octaCB(#202)	130	130	120	120	5.3	4	130	140	140	140	2.2	2
2,3,3',4,4',5,5',6-octaCB(#205)	21	18	22	20	2.2	11	18	17	22	19	2.3	12
2,2',3,3',4,4',5,5',6-nonaCB(#206)	68	69	78	72	5.5	8	77	72	78	76	3.5	5
2,2',3,3',4,5,5',6,6'-nonaCB(#208)	43	41	37	41	3.2	8	39	47	50	45	5.5	12
DecaCB(#209)	59	51	54	55	4.2	8	54	56	60	57	3.2	6

*PCB46 及び PCB69 と未分離. ** PCB90 と未分離. *** PCB168 と未分離.

表3 ダイオキシン類・PCBsの迅速一斉分析法による魚試料(カンパチ)の分析結果.

(1) PCBs異性体分離分析結果

化合物 (IUPAC No.)	濃度 (pg/g)	回収率* (%)
MoCBs #1	1.4	52
#2	2.1	—
#3	1.4	54
DiCBs #10	ND	—
#4	5.5	70
#9	ND	—
#7	ND	—
#6	4.3	—
#8/#5	22	—
#14	ND	—
#11	17	—
#13/#12	ND	—
#15	ND	72
TrCBs #19	5.6	91
#30	ND	—
#18	44	—
#17	21	—
#24	0.93	—
#27	4.7	—
#32	23	—
#16	7.2	—
#23/#34	2.6	—
#29	0.76	—
#26	32	—
#25	12	—
#31	180	—
#28	250	—
#21/#20/#33	36	—
#22	45	—
#36	27	—
#39	ND	—
#38	ND	—
#35	ND	—
#37	6.6	103
TeCBs #54	5.0	69
#50	0.87	—
#53	16	—
#51	20	—
#45	11	—
#46/#52/#69	380	—
#73/#43/#49	270	—
#65/#75/#48/47	220	—
#62	ND	—
#44/#59	140	—
#42	44	—
#64/#72	150	—
#71	29	—
#41	40	—
#68	1.3	—
#40/#57	16	—
#67	8.4	—
#63/#58	32	—
#61/#74	280	—
#70/#76	330	—
#80	ND	—
#66	400	—
#55	ND	—
#60/#56	170	—
#79	2.0	—
#78	2.5	—
PeCBs #104	5.0	64
#96	41	—
#103	27	—
#100	31	—
#94	1.3	—
#102/#93/#98/#95	320	—
#88/#91/#121	92	—
#92/#84	140	—
#89	42	—
#90/#101	90	—
#113	3.2	—
#99	630	—
#112/#119	42	—
#83/#115	16	—
#86/#117/#97/#125/#1	180	—
#87/#108/#111	220	—
#85	130	—
#120	15	—

(2) ダイオキシン類(モノオルトPCBsを除く)分析結果

化合物	濃度 (pg/g)	回収率* (%)
PCDDs** 2,3,7,8-TeCDD	0.041	70
1,2,3,7,8-PeCDD	0.16	74
1,2,3,4,7,8-HxCDD	ND	79
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.039	73
1,2,3,7,8,9-HxCDD	ND	85
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.027	80
OCDD	0.087	73
PCDFs** 2,3,7,8-TeCDF	0.43	73
1,2,3,7,8-PeCDF	0.19	76
2,3,4,7,8-PeCDF	0.66	74
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.053	79
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.043	78
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.034	83
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.045	76
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	ND	86
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	80
OCDF	ND	74
Non-ortho 3,3',4,4'-TeCB (#77)	27	75
PCBs** 3,3',4,5'-TeCB (#81)	1.6	75
3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	12	75
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	3.2	79

(3) 総合分析結果(総PCBs濃度、ダイオキシン類濃度)

化合物	濃度 (pg/g)
Total MoCBs	5.0
Total DiCBs	49
Total TrCBs	700
Total TeCBs	2600
Total PeCBs	4200
Total HxCBs	6200
Total HpCBs	2900
Total OcCBs	380
Total NoCBs	63
Total DeCB	44
Total PCBs (μg/g)	0.017
Total dioxins (pg-TEQ/g)**	1.9
Fat content (%)	4.9

*クリーンアップスパイクの添加回収率。
 **ダイオキシン類の毒性評価対象物質。
 ***WHO-TEF(2005)により算出。