

## 油脂中のダイオキシン類分析の検討 - 水・メタノール添加の有用性について -

木原 敏博 小田 達也 五十嵐 正次  
中村 孝臣 藤田 晃三

### 要 旨

油脂中のダイオキシン類を分析する際、アルカリ分解・溶媒抽出を行うと、試料液と有機溶媒が安定なエマルジョンを形成し、その後の抽出操作が不可能となる。分離の手段として試料量の減量および抽出溶媒の増量が考えられるが、検出下限の上昇、溶媒からのコンタミネーションの増加などが懸念される。今回、油脂類に関するこれらの困難を解決するために、オリーブ油、ラード、バターを用いて検討を行ったところ、水・メタノール(1:1)をエマルジョンに加えることで有機溶媒層とエマルジョン層を効率的に分離できることがわかった。また、分析結果についても、内部標準物質の回収率は60～103%の範囲で、再現性も良好であった。

### 1. 緒 言

たんぱく質や油脂類が成分の大部分をなしている肉類、魚介類、卵等の食品中のダイオキシン類を分析する方法としては、「食品中のダイオキシン類及びコプラナーPCBの測定方法暫定ガイドライン」<sup>1)</sup>(以下ガイドラインと略)に示されている抽出法のうちアルカリ分解・溶媒抽出法が効果的である。特に大高らの報告したピロガロール添加・加熱分解法<sup>2)</sup>や、これを改良した松田らの高アルカリPG(ピロガロール)法<sup>3)</sup>は以下の理由によりきわめて有効な分析法である。まずPGの添加によってアルカリ分解に伴うダイオキシン類の脱塩素化を抑え、良好な内部標準の回収率が得られる。またこれにより定量精度の向上が図られる。さらに試料の分解は15分ほどで終わり、分解・抽出操作にかかる時間が大幅に短縮される。

しかし、油脂そのものが試料の場合、アルカリ分解で生成した脂肪酸が乳化作用を起こし、試料液が極めて安定なエマルジョンを形成する。その

結果、有機溶媒層が分離せず抽出操作が不可能となる。抽出溶媒量の増量によるエマルジョンの分離には、多量の溶媒を必要とし、溶媒からのコンタミネーションによるブランク値の上昇が懸念される。さらに、抽出した後はヘキサン含有濃アルカリダイオキシン廃液という処理が困難な廃液が多量に残るので、使用する溶媒量は少ないほうがよい。これらの理由で、油脂に関しては他の食品のサンプリング量(約100g)よりも試料量を減らす(20～30g)必要があった。その結果、検出下限が他の食品と比べて高くなる。また、エマルジョン層には多量のヘキサンが含有されるので、液々分配の際に抽出効率が落ちて回収率にも影響を与える。そこで今回は、サンプリング量を50g程度の量とし、さらにエマルジョン中から効率的に有機溶媒を分離することを目的に分析法の検討を行ったので報告する。

### 2. 方 法

### 2-1 試料

試料は、植物油であるオリーブ油、動物性脂肪のラードおよび乳脂肪のバターの3種類を用いて検討を行った。採取量はそれぞれ50gである。

### 2-2 試薬

標準品は各2378体のPCDDs/DFsおよびCo-PCBs、各スパイク用の内部標準品は13C-でラベル化したPCDDs/DFsおよびCo-PCBs (Wellington Laboratories社製)。

アセトン、ヘキサン、活性炭分散シリカゲルは関東化学(株)のダイオキシン類分析用。

メタノール、エタノール、トルエン、ジクロロメタン、ノナン、無水硫酸ナトリウム、多層カラム用各種シリカゲルは和光純薬工業(株)のダイオキシン類分析用。

水酸化ナトリウム、ピロガロール等その他の試薬は特級品を用いた。

### 2-3 抽出

通常の食品の場合、試料を500mlのバツフル付きねじ口三角フラスコに入れ精秤する。3%ピロガロール含有エタノール75ml加え軽くふり混ぜる。13C-PCDDs/DFsを400pg (8塩素体は800pg)、13C-Co-PCBsを1000pgクリーンアップスパイクとして加える。50℃の湯浴で加温しながら50%KOH水溶液75mlを加え、すばやく栓をして激しく攪拌する。湯浴中で時々振り混ぜながら15分ほど加温する。その後、氷水で室温まで冷却する。温度を下げすぎると生成した脂肪酸が析出してくるので冷却しすぎに注意する。室温まで冷却後ヘキサン200mlを加えて激しく攪拌する。

次に試料液を500ml分液ロートに移し、10分ほど振とうする。上層に分離したヘキサン層を分取した後、下層の残液にヘキサンを加えて10分ほど振とうし静置後、上層に分離したヘキサン層を分取する。同じ操作をもう一度行ない、ヘキサンをあわせて、抽出液とする。

以上抽出操作にかかる時間は短時間で、操作も比較的簡単であり、肉、魚、乳類等には有用な方

法である。ところが油脂の場合、アルカリ分解した試料液にヘキサンを加えて振とうした際、試料液は安定なエマルジョンを形成して、ヘキサン層を分離できなくなる(図1a)。

このような場合、エタノール等を加えることによって有機溶媒層とエマルジョン層を分離できることがある。しかし油脂試料に関してはエタノールを多量に添加してもヘキサン層の分離が生じなかった。そこでひとつの方法としては分液ロートの大きさを変えて、さらに多量のエタノールとヘキサンを有機層が分離するまで加えるというやり方が考えられる。しかしこの方法ははじめに述べたように、多量の溶媒を使用することによるブランク値の増加が懸念され、さらに、処理に困る廃液が多量に発生する。このことから今回は、効率よくエマルジョンから有機層を分離する方法を検討することとした。

### 2-4 分離条件の検討

エマルジョン状態の試料液から有機層を分離する方法として、まず加温および超音波洗浄器による振動を試みた結果、有機層の分離はなされなかった。次にエタノール以外で、添加により分離が促進される物質を検討した。加える試薬に関しては、後の操作のことを考慮するとヘキサンより水層に親和性のある物質が適当である。また、酸性物質は、アルカリ条件下で水層に可溶化している



表1 添加した試薬とエマルジョン  
の分離状況

添加試薬	分離状況
塩化ナトリウム	×
硫酸マグネシウム	×
酢酸アンモニウム	
尿素	
ジエチレングリコール	
PEG200	
PEG400	
メチルセロソルブ	
水・エタノール(1:1)	
水・メタノール(1:1)	

×：分離せず                   ：わずかに有機層が分離  
  ：有機層が分離

脂肪酸が遊離してヘキサン層に移ってしまうので不都合である。これらのことを考慮して、数種類の試薬を定性的に、エマルジョンに添加した結果を表1に示す。

硫酸マグネシウムに関しては、脂肪酸の凝集による分離を期待したが、全体的に濁りを生じるだけで分離は生じなかった。尿素に関しては若干の分離が生じたが、十分な量の分離が生じるには多量の添加を必要とした。十分な分離が生じたのはポリエチレングリコール類のジエチレングリコール、PEG200、PEG400、それとメチルセロソルブおよび水・アルコール混液であった。ポリエチレングリコール類およびメチルセロソルブが有効ということから、構造中にエーテル結合またはそれに似た構造を持つ物質が有効と考えられる。水・エタノール混液に関しては、エタノールだけの添加では効果がなく、水との混液で有効ということから、水との会合状態が分離に効いていると考えられる。

これらの試薬の中から、ポリエチレングリコール類よりも粘性が低く分離に時間がかからない、また、ダイオキシン用のグレードが存在するという理由により水・アルコール混液を用いて、効率のよい添加量の検討を行った。

オリーブ油および使用試薬を通常分析のほぼ半

量（オリーブ油25g、エタノール40ml、50%NaOH水溶液40ml、ヘキサン100ml）を使用して形成したエマルジョンに、水・アルコール混液を加えていった場合に分離する有機層の量を図2に示す。水・エタノール(1:1)については40mlの添加で分離が起り始め、添加量が増えていくにしたがって、徐々に分離してくる有機層も増加していった。

一方、水・メタノール(1:1)はエタノール系の半量、20mlの添加で分離が起り始め、40ml程度の添加量で有機層の分離量が極大となった。また水・メタノール(1:1)は過剰に加えると下層のエマルジョンが有機層に移る現象が起きた。これは水・メタノールを過剰に加えることによって、エマルジョンのミセル構造が変化することが原因と考えられる。エタノール系はエマルジョンが上層に移ることはなかったが、メタノール系と同程度の分離量を得るまでにはかなりの量を加える必要があった。

次にオリーブ油50gを試料として水・エタノール系と水・メタノール系を使用して分析を行ない、定量結果および回収率等の比較をした。生成したエマルジョンに、それぞれを80ml添加したあと、ヘキサン抽出を1回目に200ml、2回目、3回目には100mlずつで行った。GC/MSへの注入量は1μlである。後に述べるが結果として両者に大きな違いは見られなかった。この結果から、ラード、バターの分析については少量の添加で分離するヘキサン量の多い、水・メタノール(1:1)を使用することとした。添加量は80mlとして、ヘキサン抽出を1回目は200ml

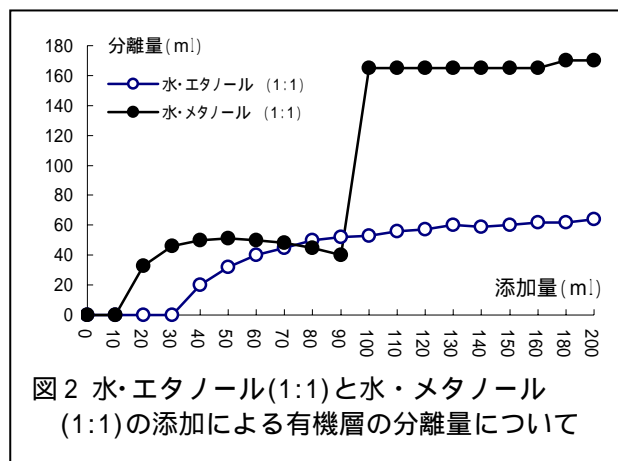


図2 水・エタノール(1:1)と水・メタノール(1:1)の添加による有機層の分離量について

1、2回目、3回目は150mlずつで行うこととした。ロードを試料として抽出操作を行った場合の水・メタノール(1:1)添加前と添加後の試料の状態を図1aおよびbに示す。

2-5 精製

分離したヘキサン層は水洗中和後、無水硫酸ナトリウムで脱水して濃縮操作を行った。濃縮後のフラスコ中にほとんど残渣は見られなかったため、硫酸処理を行わず、直接多層シリカゲル精製を行った。多層シリカゲルの構成はガイドラインに従った。用いた試料では、2%AgNO<sub>3</sub>含有シリカゲルの上部が黒くなったほかは、ほとんどシリカゲル中で色がつかなかった。このことから水・メタノール(1:1)を加えても、硫酸含有シリカゲルで分解され発色するような成分はほとんどヘキサン層には移行してこないことがわかる。精製液を濃縮した際も析出物等は見られなかった。

次に、活性炭分散シリカゲルによる画分精製を行った。内径8mmのガラスカラムに活性炭分散シリカゲル1gを、上下に無水硫酸ナトリウムをはさむ

ようにして乾式充填した。試料液を負荷した後30分ほど放置してからヘキサン20mlでコプラナー以外のPCBsおよびその他の夾雑物を洗浄、次にヘキサン・ジクロロメタン(3:1)40mlでmono-ortho PCBsを流出、最後にカラムを加温しながらトルエン200mlでnon-ortho PCBsおよびPCDDs/DFsを流出した。それぞれの画分を濃縮し、シリンジスパイクとして13C-1278TeCDF、13C-1234689HpCDFを400pg、13C-2,3',4',5TeCB(#70)を500pg添加したあと、ノナンを加えさらに20μlまで窒素吹きつけで濃縮し、GC/MS用試料液とした。

2-6 GC/MS分析条件

表2にGC/MS分析条件を示す。GC: Agilent 6890 Plus、注入量: 2μl(オリーブ油は1μl)、split less mode、シリンジの洗浄にはアセトンおよびヘキサンの2段階洗浄を行った。

456Cl-PCDDs/DFsの分析には、カラムはSP2331(60m-0.32mm-0.2μm)(Spelco)、注入口温度: 260、キャリアー圧: 108kPa、78Cl-PCDDs/DFsおよびCo-PCBs用にはHT8-PCB(60m-0.25mm)(関東化学)

表2 GC/MS分析条件

GC: Agilent 6890 Plus(Agilent Technologies)

	Injection mode	: splitless
	Injection volume	: 2 μl
	Flow mode	: Constant Flow mode
456Cl PCDDs/DFs	Column	: SP2331 60m-0.32mm-0.2 μm (speluco)
	Oven temp.	: 100 (1min)-20 /min-200 -2 /min-260 (24min)
	Injection temp.	: 260
	Pressure	: 108.3kPa
78Cl PCDDs/DFs	Column	: HT8-PCB 60m-0.25mm (Kanto Kagaku)
	Oven temp.	: 130 (1min)-20 /min-320 (10min)
	Injection temp.	: 280
	Pressure	: 230.5kPa
Co-PCBs	Column	: HT8-PCB 60m-0.25mm (Kanto Kagaku)
	Oven temp.	: 130 (1min)-20 /min-200 -2 /min-240 -8 /min-320(10min)
	Injection temp.	: 280
	Pressure	: 230.5kPa

MS: JMS700D(JEOL)

	Ionized energy	: 38eV
	Current	: 600 μA
	Resolution	: >10000
	Accel. volt	: 10kV
	Ion source temp.	: 260 (456Cl PCDDs/DFs)
		: 280 (78Cl PCDDs/DFs, Co-PCBs)

注入口温度：280、キャリアー圧：230.5 kPa、を用いた。

2-7 同定および定量

PCDDs/FDsの各2378異性体およびCo-PCBsについては、対応するクリーンアップスパイクのピークとのマッチングにより同定を行った。PCDDs/DFsの2378体以外の異性体については、Ryanらの文献<sup>4)</sup>を基にして同定を行った。

定量は各2378体およびCo-PCBsに関しては対応するクリーンアップスパイクを内部標準として、相対感度係数法により行った。それ以外の異性体

については、それぞれ同塩素数の2378体から得られた相対感度の平均を用いて定量した。

3. 結果および考察

3-1油脂試料中ダイオキシン類測定結果

表3に各試料のダイオキシン類濃度を示す。表は同一試料を2回ずつ採取して測定したものを個別に載せてある。オリーブ油についてはGC/MSへの注入量がラード、バターより少ないので、試料換算での検出下限値が高くなり、有効桁数が少なくなっており、検出されるピークも少なくなっている。

表3 油脂類中のダイオキシン類濃度(pg/g)

化合物の名称		オリーブ油 (水・エタノール)	オリーブ油 (水・メタノール)	ラード1	ラード2	バター1	バター2
PCDDs	1368-TeCDD	0.2	0.24	0.016	ND	0.039	0.026
	1379-TeCDD	0.11	0.08	ND	ND	0.017	0.011
	2378-TeCDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	12378-PeCDD	0.01	0.02	0.012	ND	0.054	0.053
	123478-HxCDD	0.02	ND	0.015	0.051	0.05	0.055
	123678-HxCDD	ND	ND	0.04	0.04	0.059	0.053
	123789-HxCDD	ND	ND	0.018	0.026	0.075	0.1
	1234678-HpCDD	0.05	0.06	0.56	0.53	0.23	0.25
	OCDD	0.6	0.74	4.5	4.5	0.29	0.29
	PCDFs	2378-TeCDF	0.02	0.03	ND	ND	0.028
12378-PeCDF		ND	ND	ND	ND	ND	0.016
23478-PeCDF		ND	ND	ND	ND	0.06	0.053
123478-HxCDF		0.02	0.01	0.023	0.017	0.044	0.035
123678-HxCDF		0.02	ND	0.034	0.016	0.031	0.026
123789-HxCDF		ND	ND	0.028	ND	ND	ND
234678-HxCDF		ND	ND	ND	ND	0.026	0.037
1234678-HpCDF		ND	0.02	0.11	0.13	0.019	0.039
1234789-HpCDF		ND	0.01	0.024	ND	ND	ND
OCDF		ND	ND	0.025	0.073	ND	ND
Co-PCBs	3,4,4',5'-TeCB(#81)	0.04	0.05	0.019	0.018	0.086	0.08
	3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.63	0.72	0.41	0.55	0.14	0.12
	3,3',4,4',5'-PeCB(#126)	0.12	0.12	0.046	0.043	0.52	0.5
	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	ND	ND	0.035	0.038	0.12	0.12
	2',3,4,4',5'-PeCB(#123)	0.15	0.16	0.057	0.077	0.9	0.79
	2,3',4,4',5'-PeCB(#118)	6.99	7.62	2.1	2.7	44	41
	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	2.77	2.86	0.73	0.81	12	9.9
	2,3,4,4',5'-PeCB(#114)	0.16	0.21	0.1	0.11	1.5	1.4
	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	0.32	0.43	0.32	0.38	1.7	1.4
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#156)	0.74	0.79	1.5	1.6	3.7	3.1
	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	0.15	0.18	0.34	0.4	0.87	0.78
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	0.08	0.09	0.44	0.49	0.28	0.27	
Total(PCDDs+PCDFs)	2.03	2.46	5.613	5.616	1.267	1.328	
Total(Co-PCBs)	12.15	13.23	6.097	7.216	65.816	59.46	
Total(PCDDs+PCDFs+Co-PCBs)	14.18	15.69	11.71	12.83	67.08	60.79	

異性体は2378体の他に、クロマトグラムの最初にピークが検出されて目安になる1368-および1379-TeCDDも測定している。Total(PCDDs+PCDFs)の値は2378体のみではなく、2378体以外のOthersと呼ばれるPCDDsやPCDFsを含んだ値である。

含有量としては、PCDDsではOCDDがどの試料も高めになっている。しかし、毒性等量としては毒性等価係数(TEF)の高い12378 - PeCDDが主要な影響を与えている。PCDFsについてはどの試料も特に目立って含有量の高い異性体は見られない。

Co-PCBsでは#118がどの試料も含有量が最も高く次いで#105が高いが、これは他の食品や他の媒体(大気、土壌等)でも一般的にみられる。Co-PCBsの中では、毒性等量に大きな影響がある#126の濃度が比較的高いため総毒性等量に与えるPCBの寄与が大きくなり、PCDDs/DFsと同じレベルとなっている。

### 3-2 操作ブランク

操作ブランクは、試料を用いずに、水・メタノール(1:1)80mlを加えて抽出操作を行ない分析した。操作ブランク値とガイドラインで示されている標準的検出下限値との比較を表4に示す。OCDD, 23478-PeCDF, 1234678-HpCDF, 1234789-HpCDF, およびいくつかのCo-PCBでピークが認識された。そのうちCo-PCBsの#77、#118および#105が比較的高く検出されたが、いずれも標準的検出下限以下であった。

### 3-3 回収率

それぞれの試料のクリーンアップ回収率を図3、および表5に示す。ガイドラインではクリーンアップ回収率の許容範囲を40~120%としているが、どれも許容範囲内である。比較として平成14年度に行った油脂類の回収率を示した。異性体全般に今回よりも低い値となっている。この操作としては、試料量を30g採取、アルカリ分解後ヘキサンを加えて形成されたエマルジョンを少量ずつ分取して分液ロートに移す。そこにエタノール、ヘキサンを有機層が十分量分離するまで加え、振とう抽出(1回ずつ)を行ない、合わせたものを抽出液とした。

この場合、総量として多量のエタノール、ヘキサンが必要であった。しかも加えた溶媒のかなりの量がエマルジョン中に含まれて、多量の廃液が発生した。また抽出した溶媒の濃縮時に残渣が残り、そのままでは多層シリカゲル処理が出来ず、硫酸分解処理が必要であった。これら余計な処理が必要であったことと、試料全体としての抽出回数は1回であるということから、回収率の低下を招いた

表4 標準的検出下限値および操作ブランク値とクリーンアップ回収率

化合物の名称	標準的検出下限値(pg/g)	操作 Blank (pg/g)	回収率 (%)
2378-T4CDD	0.01	0	87
12378-P5CDD	0.01	0	93.2
123478-H6CDD	0.02	0	102.1
123678-H6CDD	0.02	0	98.5
123789-H6CDD	0.02	0	86.3
1234678-H7CDD	0.02	0	86.1
O8CDD	0.05	0.014	72.8
2378-T4CDF	0.01	0	82.4
12378-P5CDF	0.01	0	88.5
23478-P5CDF	0.01	0.007	91.8
123478-H6CDF	0.02	0	97.9
123678-H6CDF	0.02	0	89.2
123789-H6CDF	0.02	0	87.4
234678-H6CDF	0.02	0	91.3
1234678-H7CDF	0.02	0.003	80.3
1234789-H7CDF	0.02	0.002	78.8
O8CDF	0.05	0	74.4
3,4,4',5-TeCB(#81)	0.1	0	72.1
3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.1	0.034	72
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.1	0	71.9
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.1	0.009	78.3
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	1	0	81.3
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	1	0.112	87.8
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	1	0.06	87.2
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	1	0.014	83.5
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	1	0.008	84.8
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	1	0.017	85.2
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	1	0.008	85.4
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	1	0	83.5

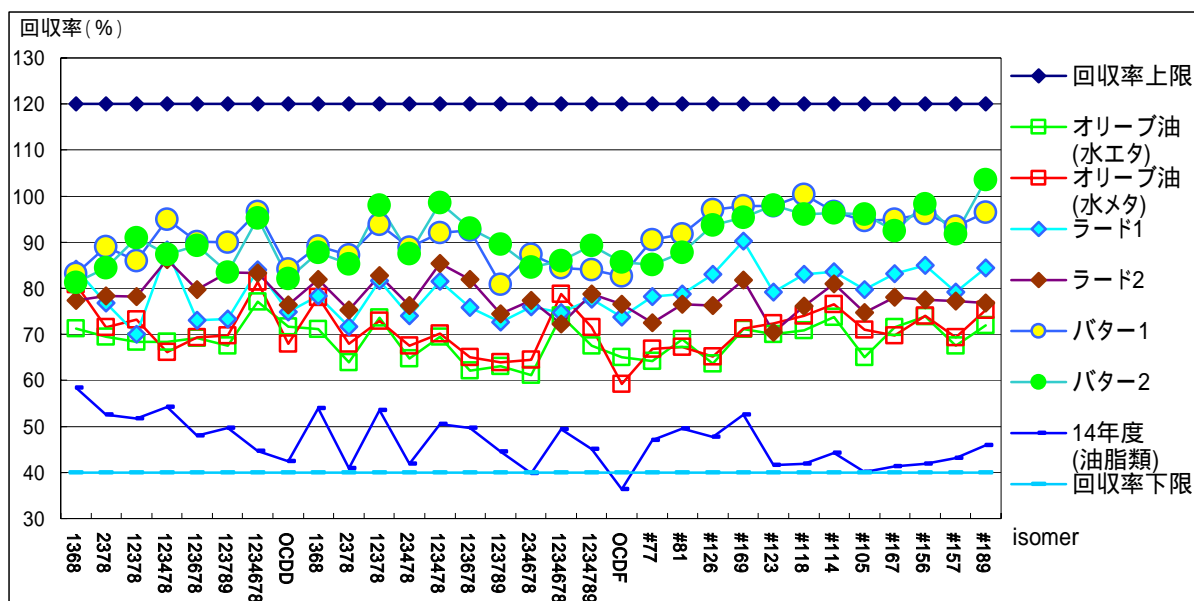


図3 各試料の異性体別クリーンアップ回収率 (%)

表5 試料別クリーンアップ回収率の最高、最低および平均値 (%)

試料	オリーブ油 (水エタ)	オリーブ油 (水メタ)	ロード1	ロード2	バター1	バター2	平成14年度 (油脂類)
max	77.1	81.4	90.3	86.3	100.4	103.6	58.4
min	61.1	59.2	70	70.4	80.9	81.3	36.4
Ave	<b>68.7</b>	<b>70.7</b>	<b>79.0</b>	<b>78.2</b>	<b>91.1</b>	<b>90.8</b>	<b>46.6</b>

と考えられる。

今回の手法では、どの試料に関しても回収率の改善が見られる。オリーブ油に関しては平均回収率が約70%で、他の試料より若干低めであった。これは抽出時に加えるヘキサン量が1回目には200mlでロード、バターと同量であるが、2回目、3回目の抽出はロード、バターが150mlなのに対し、オリーブ油では100mlと少ないことが原因と考えられる。このことは2回目、3回目の抽出もダイオキシン類が少なからず回収されていることを意味している。

バターに関しては回収率の平均が約90%と一番よい結果となった。バターはアルカリ分解液にヘキサンを加えた際、全体がエマルジョンにならず、水・メタノールを加える前から多少の有機層が分離していた。ロードに関しては、抽出に使用しているヘキサン量はバターと同量であるが、全体がエマルジョンとなる。よって、ロードの平均回収率

とバターの平均回収率の違いは、エマルジョンと有機層の分離のしやすさの違いによるものと考えられる。

### 3-4 再現性

同一試料を2回採取、測定した際の再現性に関して、各異性体については「検出下限の3倍を超える濃度で検出された異性体について、それぞれの濃度の差を、それらの平均値で割ったもの」をばらつきの指標にした。トータルの結果についてのばらつきは「算出した2つの全毒性等量(TEQ)の差をそれらの平均値で割ったもの」を指標とした。式としてはどちらも同じ式である。それぞれの値について、一般に30%を超えないことという表現

$$D = \frac{(C1 - C2)}{((C1 + C2) / 2)} \times 100 \dots$$

C1 : 試料1の濃度またはTEQ

C2 : 試料2の濃度またはTEQ



表6 検出下限の3倍を超えて検出された異性体の濃度についてのばらつき(D値)

測定物質	オリーブ油	ラード	バター
1368-TeCDD	9.1		21.2
1379-TeCDD	15.8		
12378-PeCDD			1.9
123789-HxCDD			13.6
1234678-HpCDD		2.8	4.2
OCDD	10.4	0.0	0.0
2378-TeCDF			14.7
23478-PeCDF			7.0
1234678-HpCDF		8.3	
3,3',4,4'-TeCB(#77)	6.7	14.6	
3,3',4,4',5-PeCB(#126)			2.0
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	4.3		3.5
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)			9.6
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)			8.8

表7 TEQの再現性について

試料名	総毒性等量 (TEQ-pg/g)	総濃度 (pg/g)
オリーブ油(水エタ)	0.03	14.18
オリーブ油(水メタ)	0.04	15.69
D=	<b>28.57</b>	<b>10.11</b>
ラード1	0.04	11.71
ラード2	0.03	12.83
D=	<b>28.57</b>	<b>9.14</b>
バター1	0.18	67.08
バター2	0.18	60.79
D=	<b>0.00</b>	<b>9.85</b>

がなされている。表6および表7にそれらの結果を示す。

検出下限の3倍を超えて検出された異性体について、すべて30%の範囲に収まっていることがわかる。オリーブ油については、水・エタノール(1:1)添加と水・メタノール(1:1)添加という違いがあるが、やはりばらつきは30%範囲内である。TEQに関しても、どの試料も30%以内に入っている。オリーブ油とラードについてはTEQ値が低いので、値のわずかな違いでばらつきの度合いが大きくなっている。またバターについては、有効数字の範囲で一致した値になっている。そこでTEQのほかにトータルのダイオキシン類濃度の比較をした結果、どの試料も10%程度のばらつきを持っていた。

. Panopio;et.al : Gas chromatographic sep

#### 4. 結 語

油脂中のダイオキシン類を分析する際に生ずるエマルジョンについて、ポリエチレングリコール類、水・アルコール混液等を添加することによって、エマルジョンと有機層の分離が可能であることがわかった。

水・メタノール(1:1)を添加して、抽出した有機層について、夾雑物は少なく、直接多層シリカゲルにかけることが出来た。

クリーンアップ回収率に関しては、抽出に使用したヘキサン量が、1回目に200ml、2回目3回目に100ml使用したオリーブ油では60~80%、1回目に200ml、2回目3回目に150ml使用したラード、バターは70~103%であった。

再現性についても、各異性体の濃度および総TEQのばらつきは30%以内であった。

今回は、オリーブ油、ラード、バターの3種類の油脂について検討を行ったが、今後は今回の結果を基にして、さらに多種の油脂について分析を行っていく予定である。

最後に、ピロガロール添加加熱分解法および高アルカリPG法についてご助言をいただきました大高、松田両氏に深謝いたします。

#### 5. 文 献

- 1) 厚生労働省：食品中のダイオキシン類及びコプラ-PCBの測定方法暫定ガイドライン、平成10年11月
- 2) 大高広明，牧野和夫：生物試料のダイオキシン類分析における加熱アルカリ分解法の可否について、第10回環境化学討論会講演要旨集,128-129, 2001
- 3) 松田壮一、濱田典明、本田克久、他：生体試料中ダイオキシン類の抽出法に関する検討、環境化学, 13,133-142,2003
- (4) John J. Ryan;Henry B. S. Conacher;Luz G arations of all 136 tetra- to octa-polyc



札幌市衛研年報 31, 54-62(2004)

chlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans on nine different

stationary phases, Journal of Chromatography, 541, 131-183, 1991

4 ) John J. Ryan;Henry B. S. Conacher;Luz G. Pano  
pio;et.al : Gas chromatographic separations of all  
36 tetra-to octa-polychlorinated

dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofur  
ans on nine different stationary phases,Journal  
of Chromatography,541,131-183,1991

## Analytical Method of Dioxins in Edible Fat and Oil - Usefulness of Water and Methanol Addition -

Satohiro Kihara, Tatsuya Oda, Masatsugu Igarashi,  
Takaomi Nakamura and Kozo Fujita

A method using alkaline hydrolysis and extraction with organic solvent is useful to analysis of dioxins in oily foods. However, it is difficult to extract dioxins from edible fat and oil due to emulsion formation of hydrolysate and organic solvent. To extract organic solvent, sample amount must be reduced. Then limit of detection grow worse and recoveries go down on account of difficulty in operating. We found that water and methanol (1:1) addition was useful to separate solvent layer from emulsion. Using this method, the limit of detection and repeatability were satisfactory. The recovery rates of  $^{13}\text{C}$ -labeled internal standard were within a range from 60 to 103%.