

## 生物検定法による飼料用魚油中ダイオキシン類の簡易測定

長谷川淳<sup>1)</sup>, Guruge K.S.<sup>1)</sup>, 白井裕治<sup>2)</sup>, 山多利秋<sup>2)</sup>, 八木寿治<sup>2)</sup>, 森藤香<sup>2)</sup>, 中村昌文<sup>3)</sup>, 半田洋士<sup>3)</sup>, 山中典子<sup>1)</sup>, 宮崎茂<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>(独)農研機構 動物衛生研究所, <sup>2)</sup>(独)肥飼料検査所, <sup>3)</sup>(株)日吉

**【目的】** 畜産・水産養殖におけるダイオキシン類汚染源のほとんどは飼料に起因するため、これらの汚染状況を把握し対策が講じられる体制を確立しておくことは重要である。EUでは食品・飼料中ダイオキシン類の規制値が設定されており、多試料モニタリングのため、労力やコストのかかる機器分析法の代わりに、生物検定法が公的な簡易測定法として採用されている。一方、我が国においては、主に排ガスや土壌、底質を対象として生物検定法の有用性が検討、実証されているが、飼料を対象とした調査は行われていない。そこで本研究ではまず、飼料原料の中でもダイオキシン類汚染度の高いことが知られる魚油を対象として、生物検定法による簡易測定の有用性を検討した。生物検定法として、レポータージーンアッセイの一種である CALUX アッセイを用いた。アッセイの妥当性を確認するために機器分析による測定も行い、両者の比較検討を試みた。

**【試料と方法】** 2000~2005年に採取した飼料用魚油(n=29)を用いた。機器分析については、飼料中のダイオキシン類の定量法暫定ガイドラインに従い HRGC/HRMS で測定し、WHO-TEQ を算出した。CALUX アッセイについては、硫酸シリカゲルによる精製、活性炭カラムによる PCDD/DFs と Dioxin-like PCBs (DL-PCBs) の分画後、DMSO に置換して CALUX アッセイに供した。

**【結果と考察】** 機器分析による魚油中の WHO-TEQ は、PCDD/DFs : 2.6 (0.014 ~ 6.0 pg/g wet)、DL-PCBs : 10 (1.0 ~ 24 pg/g wet) で、Total Dioxins (PCDD/DFs + DL-PCBs) に占める DL-PCBs の割合は約 8 割であった。CALUX アッセイによる TEQ の平均値は、機器分析による TEQ と比べ、PCDD/DFs で約 3 倍、DL-PCBs で約 1/2 の値を示したが、Total Dioxins (PCDD/DFs + DL-PCBs) ではほぼ一致していた。アッセイでは、PCDD/DFs 画分に存在するその他の AhR アゴニストが反応に関与するため高値となり、一方、DL-PCBs は CALUX に用いる細胞の交差反応性が WHO-TEF よりも低いために低値を示したと考えられる。両法における相関係数は、PCDD/DFs : 0.89、DL-PCBs : 0.90、Total Dioxins : 0.94 と良好であり、回帰式の傾きを換算係数として、CALUX-TEQ から WHO-TEQ 予測値を算出することが可能となった。これらの結果により、CALUX アッセイは飼料用魚油中ダイオキシン類のスクリーニングに極めて有用であることが示された。現在、より簡便な生物検定法として、市販 ELISA キットによる簡易測定の検討も行っている。

### Bio-analytical screening of dioxins in fish oil for feed ingredients

Jun Hasegawa<sup>1)</sup>, Guruge K.S.<sup>1)</sup>, Yuji Shirai<sup>2)</sup>, Toshiaki Yamata<sup>2)</sup>, Toshiharu Yagi<sup>2)</sup>, Kaori Morito<sup>2)</sup>, Masafumi Nakamura<sup>3)</sup>, Hiroshi Handa<sup>3)</sup>, Noriko Yamanaka<sup>1)</sup>, Shigeru Miyazaki<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>National Institute of Animal Health, <sup>2)</sup>Fertilizer and Feed Inspection Service, <sup>3)</sup>Hiyoshi Corporation

In the present study, we investigated dioxin levels in fish oil used for feed ingredients by CALUX assay and HRGC/HRMS. The mean level of CALUX derived TEQ for PCDD/DFs were about 3 times higher, while for DL-PCBs were about one-half compared to HRGC/HRMS data. It could be expected that there are other AhR agonists in PCDD/DFs fraction. The lower CALUX-TEQ in DL-PCBs can be explained by lower relative potency values in the cell line. The correlation of TEQ between CALUX and HRGC/HRMS was 0.89, 0.90, and 0.94 for PCDD/DFs, DL-PCBs and total dioxins, respectively. These results show that the CALUX assay is very useful method for screening of dioxins in fish oil.