

原著

## 魚介類中PCBsの異性体分離分析

堀 就英、梶原淳睦、安武大輔、中川礼子

2005～2006年度に福岡県内の食料品店で買い上げた魚介類(15試料)を分析対象として、ポリ塩化ビフェニル(PCBs)の異性体別定量分析を実施した。測定には高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計(HRGC/HRMS)を使用した。その結果、各PCBs異性体濃度の総和(総PCBs濃度)は、すべての検体において国の定める暫定規制値を下回っていた。魚介類中のPCBs異性体組成は、殆どの調査試料において国内での典型的な汚染例すなわちPCBs製品(KC-500とKC-600の混合物)と類似していたが、一部の試料では異性体組成が異なり、低塩素化物の組成が高いものが散見された。魚介類の摂食とPCBsによる人体汚染との関連を調べることを目的として、タイ及びブリ中のPCBsの異性体組成を血液中の異性体組成と比較した。タイ、ブリで最も高い濃度で検出されたPCBs異性体は2, 2', 4, 4', 5, 5'-HxCB(PCB153)であり、これらの魚介類中の総PCBs濃度の11.9%を占めていた。PCB153は、血液においても最も存在比率の高い(20.8%)異性体であり、両者におけるPCBsの残留傾向はよく一致していた。

[ キーワード：魚介類、ポリ塩化ビフェニル(PCBs)、異性体、高分解能GC/MS ]

### 1 はじめに

ポリ塩化ビフェニル(Polychlorinated biphenyls, PCBs)は、1930年頃から熱媒体や電気絶縁体等用途に工業生産が始まり、以降の総生産量(世界累計)は120万tにのぼると見積もられている<sup>1)</sup>。我が国ではPCBsによる環境汚染の深刻化をうけて1974年4月に「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(化学物質審査規制法)を施行し、PCBsを特定化学物質に指定した。結果、PCBsの製造や輸入・使用は原則として禁止されたが、難分解性のPCBsは今日も環境に広く分布・残留している実態が明らかとなっている<sup>2)</sup>。

脂溶性の高いPCBsは生物濃縮の影響で魚介類や肉類等の脂肪組織に残留する傾向が強く、これらの動物性食品、とりわけ魚介類がPCBsのヒトへの主たる暴露源と考えられている。厚生労働省は、食品規格基準としてPCBsの暫定的規制値を設けており、遠洋沖合魚介類に0.5 ppm、内海内湾魚介類には3ppm(いずれも可食部)を定めている(表1)。

PCBsには1～10塩素化物まで209種類の異性体が存在し、毒性は異性体によって異なり、一部の異性体はダイオキシン様の毒性を示す<sup>3)</sup>。また近年、低用量PCBsの慢性的暴露により、生体の内分泌系が攪乱される作用も指摘された<sup>4)</sup>。すなわち食品中の残留PCBsの分析においては、PCBsを異性体ごとに分離し、

低レベルの残留量を精密に検出・定量することが求められる。本研究では魚介類中PCBsの残留実態を詳細に明らかとするために、高分解能ガスクロマトグラフ・質量分析計(HRGC/HRMS)を使用し、同位体希釈法による異性体分離分析を実施した。さらに、魚介類におけるPCBs異性体の残留特性およびそれらと人体汚染度との関連について検討したので報告する。

なお、以下の報告では各PCBs異性体をIUPACナンバーで表記するものとする。

表1 PCBsの暫定的規制値

魚介類	(単位: ppm)
遠洋沖合魚介類(可食部)	0.5
内海内湾(内水面を含む)魚介類(可食部)	3
牛乳(全乳中)	0.1
乳製品(全量中)	1
育児用粉乳(全量中)	0.2
肉類(全量中)	0.5
卵類(全量中)	0.2
容器包装	5

### 2 実験方法

#### 2・1 試料

2005～2006年度に福岡県内の小売店で買い上げた生鮮魚介類(可食部)を対象として分析を実施した。内訳はタイ5検体、ブリ3検体、ヒラメ2検体、サケ、シイラ(マビキ)、エビ(ウシエビ)、ハマチ、アジ各1検体の計15検体であった。「遠洋沖合魚介類」

と「内海内湾魚介類」の分類は、厚生省（当時）通知「食品中に残留するPCBの規制について」（昭和47年環食442号）に従った。

## 2・2 試薬等

### 2・2・1 標準物質

下記に示す3種類の標準品を使用した。

(1) PCBs標準溶液（保持時間確認用）：ネイティブ体PCBs68種、<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-ラベルPCBs12種の混合物（各1 ng/mL、ノナン溶液）、(2) PCBs内部標準溶液（クリーンアップスパイク）：<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-ラベル体26種混合物（各10 ng/mL、ノナン溶液）、(3) PCBs内部標準溶液（シリジンスパイク）：<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-ラベル体PCB111（50 ng/mL）

### 2・2・2 一般試薬

ヘキサン、アセトン、エタノール、無水硫酸ナトリウムは関東化学（株）製の残留農薬分析用を、ノナンはウェリントン社製を、水酸化カリウム、ジメチルスルホキシド（DMSO）、塩化ナトリウムは和光純薬（株）製の特級を、硫酸は和光純薬（株）製の有害金属測定用を、10%硝酸銀シリカゲル、22%硫酸シリカゲル、44%硫酸シリカゲル、水酸化カリウムシリカゲルは和光純薬（株）製のダイオキシン類分析用を用いた。ケイソウ土粉末はバルクアイソルートソルベント（IST社製）を、シリカゲルはシリカゲル60（70～230メッシュ、メルク社製）を、蒸留水はヘキサンで洗浄したものをを使用した。

## 2・3 装置

### 2・3・1 抽出装置及び使用条件

抽出には高速溶媒抽出装置（ASE-300、ダイオネクス社製）を使用した。抽出条件は以下の通りであった。抽出溶媒：ヘキサン、温度：100℃、圧力1,500psi、加熱時間：5分、静置時間：5分、フラッシュ容量：40%、ページ時間：120秒、静置サイクル数：2回

### 2・2・3 測定機器及び使用条件

測定には高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計（HRGC/HRMS）を使用した。分析条件は下記の通りであった。

カラム：HT8-PCB（関東化学（株）製、内径0.25mm、長さ60m）、カラム温度：130℃（1分保持）→20℃/min→220℃（0分保持）→3℃/min→280℃（0分保持）→20℃/min→300℃、キャリアーガス（流量）：ヘリウム（1.3mL/min）、注入口温度：280℃、注入方法（量）：スプリットレス（1μL）

測定時の設定質量数を表2に示す。本報告では3塩化物から10塩化物のPCBsを測定対象とした。測定対象物質の溶出位置の決定（ピークの同定）は松村らの報告を参考に決定した<sup>5)</sup>。

表2 魚介類中PCBs測定における設定質量数

測定対象物質	ネイティブ体		ラベル体
	定量イオン	確認イオン	
TrCBs	255.9613	257.9585	268.0016
TeCBs	291.9195	289.9224	303.9597
PeCBs	325.8805	327.8776	337.9207
HxCBs	359.8415	361.8385	371.8817
HpCBs	393.8025	395.7995	405.8428
OcCBs	429.7606	427.7636	441.8008
NoCBs	463.7217	461.7246	475.7619
DeCB	497.6827	499.6798	509.7229

### 2・3 分析操作

均一化した魚介類試料約20gをテフロン製遠沈管（250mL容）に量り取り、ケイソウ土粉末約10gを加え、スパーテルを用いてよく混合した。この混合物を高速溶媒抽出装置用抽出セル（セル容量99mL）に充填し、クリーンアップスパイク100μL（各異性体1ng相当）を添加して抽出に供した。得られた抽出液を約50gの無水硫酸ナトリウムで乾燥したのち、ロータリーエバポレーターで濃縮・乾固し、得られた残留物を適量のヘキサンで洗いながら風袋を量った100mL容ビーカーに移した。室温で溶媒を蒸発させ、一定となった重量から風袋を差し引き脂肪量を確定した。得られた脂肪を10～15mLのエタノールで溶解し、300mL容の分液ロートに移し、1 N 水酸化カリウム・エタノール溶液 100mLを加えて室温で5分間振とうした（アルカリ分解）。ヘキサン洗浄水 100 mL及び塩化ナトリウム5gを添加してよく混和したのち、ヘキサン50mLで2回振とう抽出した。すべての有機層を無水硫酸ナトリウム約50gを用いて乾燥し、約5mLになるまで減圧濃縮した。

濃縮液の全量をヘキサンで10mLとし、半分量（5mL）を以下の精製操作に供した。濃縮液を50mL容共栓遠沈管に移し、濃硫酸15mLを加えた後、緩やかに振り混ぜた（硫酸処理）。次に内径1.5cmのコック付きガラスカラムに綿栓をし、無水硫酸ナトリウム4.0g、硝酸銀シリカゲル0.6g、シリカゲル0.4g、無水硫酸ナトリウム4.0gの順に乾式充填し、ヘキサン100mLで洗浄し、多層シリカゲルカラムを調製した。次に硫酸処理で得られたヘキサン層を多層シリカゲルカラムに負荷し、ヘキサン100mLで溶出した。

溶出液を2～3mL程度になるまで減圧濃縮した後、50mL容共栓遠沈管に移し、全量をヘキサンで40mLとした。ヘキサン飽和DMSO 10mLを入れて振とう抽出を2回行った。別の50mL容共栓遠沈管にDMSO層を集め、20mLのヘキサン洗浄水を加えて混和し、ヘキサン5mLで2回抽出した。ヘキサン層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥して濃縮し、100μL程度になるまで窒

素気流下で緩やかに濃縮し、得られた濃縮液を測定試料用バイアルに移してシリンジスパイクを添加し、GC/MS測定試料とした。

### 3 結果及び考察

#### 3・1 測定値の再現性

ブリ（試料No.1）を用いて測定値の再現性試験を行った（n=4）。この結果を表3に示す。総PCBs濃度の平均値は0.036ppmであり、相対標準偏差は9.1%と良好な結果を得た。また、クリーンアップスパイクの添加回収率（5塩化物ベース）は平均72%（範囲：59～92%）であった。

表3 ブリ（No.1）を用いた測定再現性試験結果

化合物	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	標準偏差	相対標準偏差(%)
TrCBs	1100	1400	1000	1100	1100	150	13.0
TeCBs	4400	5500	4400	4900	4800	500	10.5
PeCBs	10000	12000	10000	11000	11000	950	8.8
HxCBs	12000	14000	12000	12000	12000	1100	9.0
HpCBs	5600	6800	5700	6100	6100	50	8.5
OcCBs	1100	1300	1000	1200	1200	130	11.6
NoCBs	160	180	150	170	10	11	6.7
DeCB	69	70	58	64	65	5	8.1
総PCBs濃度 (ppm)	0.034	0.041	0.034	0.037	0.037	0.0033	8.9

#### 3・2 魚介類中の総PCBs濃度

すべての調査対象試料（15検体）でPCBsを検出したが、表4に示すように総PCBs濃度はいずれも暫定規制値を下回っていた。このうちブリ3検体の総PCBs濃度は0.021～0.061ppmの範囲（平均0.039

ppm）であり、他の魚種に対してPCBs残留の高い傾向が認められた。ブリと同様に脂肪含量が比較的高かったハマチ（1検体）から0.028ppm、サケ1検体から0.013ppmのPCBsが検出された。一方、脂肪含量の低いタイ（5検体）における総PCBs濃度は0.003～0.009ppm（平均0.006ppm）、特に脂肪含量が<0.1%の低値であったエビ、シイラ各1検体における総PCBs濃度はいずれも0.01ppmを下回っていた。一方、アジ1検体の脂肪含量は比較的高かったが（10.9%）、総PCBs濃度は0.003ppmと低い値を示した。

魚介類中PCBsの塩素数ごとの残留状況を図1～3に示した。多くの魚介類におけるPCBsの残留傾向は、PCB製品であるカネクロール（KC）の混合品（KC-500：KC-600=1：1）に類似することが指摘されている<sup>6)</sup>。今回調査した魚介類において、その多くは、6塩化物（HxCB）の含有量が最も多く、次いで5、7塩化物（HxCB、HpCB）の含有量が高い傾向を示した。これは既報<sup>6)</sup>における魚介類の汚染パターンと同様であり、KC500～600（1：1）による汚染に由来するものと考えられた。一方、タイNo.1とアジにおいては他の検体と同族体組成がやや異なり、最も含有量の多い同族体は5塩化物であった。この結果は、生態水域の汚染状況ならびに魚種間の代謝様式の違いによるものと考えられた。また、タイNo.1は養殖魚であり、養殖中に与えられた飼料中のPCBs組成を反映した結果と推察された。

表4 魚介類中PCBsの分析結果

区分	規制値 (ppm)	種類	検体数	検出値(ppm)		平均値 (ppm)	平均脂肪含量(%)
				最小	最大		
遠洋沖合魚介類	0.5	ヒラメ	2	0.001	0.002	0.002	0.3
		サケ	1	-	-	0.013	9.7
		シイラ(マビキ)	1	-	-	0.001	<0.1
内海内湾魚介類	3	タイ	5	0.003	0.009	0.006	3.7
		ブリ	3	0.021	0.061	0.039	6.7
		エビ(ウシエビ)	1	-	-	0.001	<0.1
		アジ	1	-	-	0.003	10.9
		ハマチ	1	-	-	0.028	7.2

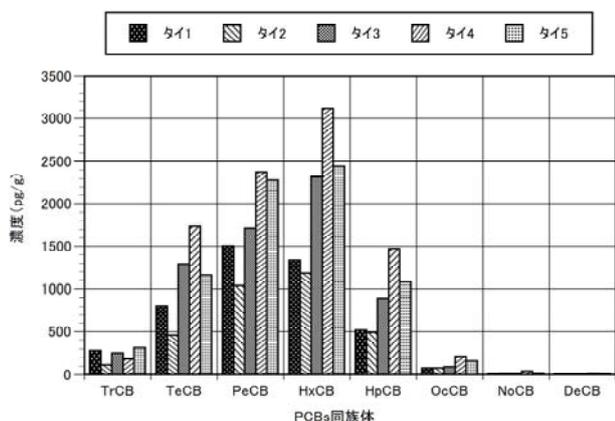


図1 魚介類(タイNo.1～5)におけるPCBs組成

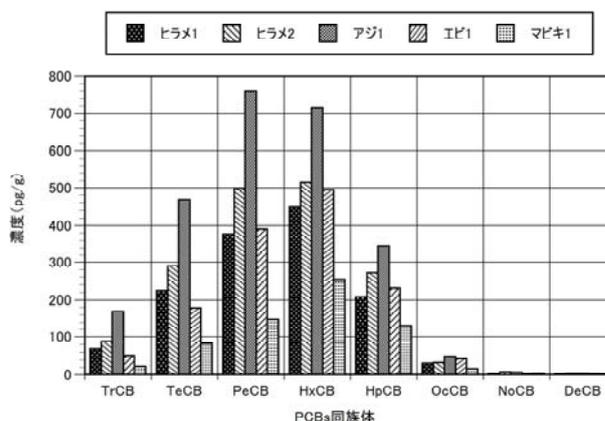


図2 魚介類(ヒラメ、アジ、エビ、マビキ)におけるPCBs組成

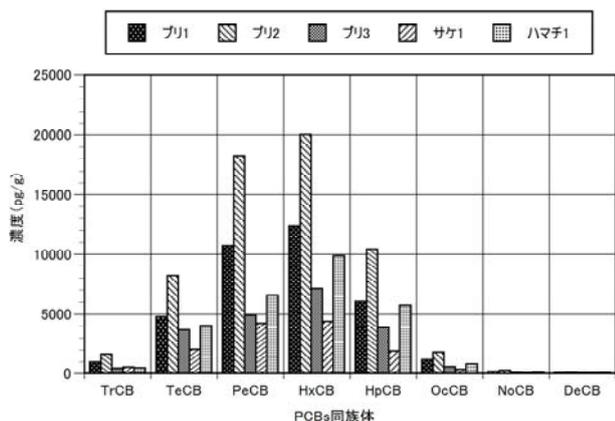


図3 魚介類（ブリ、サケ、ハマチ）におけるPCBs組成

### 3・3 魚介類汚染度と人体汚染状況との比較

我が国においてPCBs暴露の大部分は食品、特に魚介類の摂食に由来すると考えられている。しかし実際に魚介類中PCBsの残留状況と人体汚染度との関連を詳細に調べた報告は少ない。そこで本報告では、人体汚染の指標として血液中PCBs濃度を用い、それらと魚介類中のPCBs残留度を異性体別に比較し、魚介類汚染と人体汚染との関連性を検討した。魚介類中の濃度として、検査例数の多かったものからタイ（n=5）とブリ（n=3）の測定データを選び使用した。

前項で求めたタイ、ブリの測定結果より各PCBs異性体濃度の平均値を算出し、各異性体濃度の合計に占める割合（存在比率）を求めた。血液中のPCBs濃

度に関するデータは2004年度に福岡県在住の健常人127名（68～81才、平均68.1才）より提供された血液の分析結果<sup>7)</sup>を用い、タイ、ブリと同様にPCBs濃度の合計に占める割合を算出した。タイとブリ及び血液の各測定で共通の測定対象異性体（76種）について、それぞれの媒体において存在比率の高いものから順位を付し、両者間で比較した。この結果を表5に示す。なお表中では血液試料において存在比率の高かった異性体の上位から30種類を示した。

タイ、ブリにおいて存在比率が最も高かった異性体は6塩化物の#153であり、存在比率はともに11.9%であった。以下、タイ（n=5）において存在率の高かったものから異性体名を挙げると、#138（6塩化物、7.2%）、#101（5塩化物、7.1%）、#118（5塩化物、5.4%）、#139（6塩化物、5.2%）であった。同様にブリ（n=3）においては、#101（7.6%）、#138（7.1%）、#183（7塩化物、5.4%）、#139（5.2%）であり、存在比率と順位の傾向は両者でよく一致していた。

PCBs異性体の#153は、血液試料においても存在率が最も高い異性体であって、タイ及びブリにおける傾向と一致し、その存在比率は20.8%であった。このことは、魚介類を経由して人体に取り込まれたPCBsが、体内に蓄積・濃縮されている現状を端的に表しており、魚介類の摂食とPCBsによる人体汚染との関連の深さが示唆された。このほか、タイ及びブリと血液試料において存在比率が高くかつ順位が上位

表5 血液試料およびタイとブリにおけるPCBs異性体の平均濃度と存在比率

異性体	血液			タイ			ブリ		
	順位	平均濃度 (n=127, pg/g)	存在比率 (%)	順位	平均濃度 (n=5, pg/g)	存在比率 (%)	順位	平均濃度 (n=3, pg/g)	存在比率 (%)
#153	1	288	20.8	1	666	11.9	1	4246	11.9
#180/#193	2	189	13.6	8	210	3.8	6	1609	4.5
#138	3	132	9.5	2	400	7.2	3	2540	7.1
#182	4	90	6.5	61	5	0.1	58	40	0.1
#118	5	79	5.7	4	304	5.4	7	1553	4.4
#74	6	64	4.6	23	82	1.5	23	447	1.3
#163/#164	7	62	4.5	13	126	2.2	12	884	2.5
#170	8	55	4.0	25	73	1.3	18	569	1.6
#146	9	44	3.2	15	113	2.0	13	739	2.1
#99	10	40	2.9	6	254	4.5	8	1520	4.3
#199/#198	11	32	2.3	37	35	0.6	30	346	1.0
#194	12	27	2.0	43	25	0.4	39	232	0.7
#156	13	26	1.8	45	17	0.3	43	126	0.4
#196/#203	14	25	1.8	39	32	0.6	34	303	0.9
#178	15	20	1.4	47	14	0.2	44	119	0.3
#183	16	20	1.4	7	240	4.3	4	2000	5.6
#177	17	18	1.3	30	55	1.0	29	360	1.0
#105	18	17	1.2	16	105	1.9	16	655	1.8
#167	19	12	0.8	38	34	0.6	48	96	0.3
#137	20	10	0.7	44	18	0.3	45	110	0.3
#172	21	9.5	0.7	48	14	0.2	46	107	0.3
#202	22	9.0	0.6	50	10	0.2	47	98	0.3
#28	23	8.5	0.6	18	94	1.7	28	387	1.1
#130	24	8.4	0.6	40	29	0.5	41	179	0.5
#66	25	7.7	0.6	12	134	2.4	14	711	2.0
#157	26	6.5	0.5	41	29	0.5	40	197	0.6
#206	27	6.3	0.5	52	9	0.2	49	90	0.3
#101	28	6.1	0.4	3	396	7.1	2	2691	7.6
#195	29	5.8	0.4	51	10	0.2	50	83	0.2
#114	30	5.5	0.4	56	7	0.1	57	40	0.1
#139/#149	41	2.6	0.2	5	289	5.2	5	1743	4.9
#110	51	1.3	0.1	10	165	3.0	9	1103	3.1

で一致した異性体、すなわち魚介類経由の摂取による人体への蓄積が示唆された主な異性体は、#180/#193 (7塩化物)、#138、#118、#99 (5塩化物)であった。

また、タイ及びブリにおける含有率は低いものの、血液試料において高い比率で見いだされる異性体も認められた。例えば7塩化物の#182は、タイとブリではそれぞれ61位 (0.1%) と58位 (0.1%) と下位であったが、血液では4位 (6.5%) となっていた。#182は特に人体における濃縮率が高く、代謝を受けにくい化合物と推察された。

一方、タイで9位 (3.3%)、ブリで10位 (2.7%) であるのに対し、血液中では存在率が低く32位 (0.3%) となった#52 (3塩化物)を始め、#101、#110 (5塩化物)、#139/149は魚介類経由の摂取量に占める割合は高いと推察されるものの、血液中には多く見いだされず、体内での代謝を受けやすく比較的蓄積しにくい化合物と考えられた。

#### 4 まとめ

福岡県内で採取した食用魚介類15検体 (可食部) 中のPCBs濃度は、すべて国の定める暫定的規制値に対し適合していた。今回の調査では食品衛生上問題となる事例は認められなかった。

PCBsは難代謝性物質であるが、PCBsの化学構造、すなわちビフェニル骨格に対する塩素置換数や塩素置換位置によって代謝排泄の程度に顕著な差が認められている。代表的な代謝物は水酸化PCBsやメチルスルホンPCBsであるが、これらの化合物の一部には代謝活性化によって母化合物のPCBsよりも高毒性を示すものがあると報告されている<sup>8)</sup>。また近年、一般人の血液から水酸化PCBsがppbオーダーで検出されている<sup>9)</sup>。PCBsの主たる暴露源である魚介類の汚染度ならびに人体汚染度を異性体ごとに明らかにすることは、PCBsやその代謝物の健康影響を評価するうえで有用と考えられる。

PCBsの食事経由の平均摂取量は、PCBsの製造使用中止措置がとられた1974年以降ゆるやかに減少したが、近年は明確な減少傾向は見られずほぼ横ばいであり、1995年における調査結果では一般人の食事経由のPCBs摂取量は約0.5 $\mu$ g/人/日と見積もられている<sup>10)</sup>。PCBsにおいては、ダイオキシン様作用や内分泌攪乱作用が指摘され、その健康影響について改めて人々の関心を呼んでいる。今後も魚介類の汚染実

態を継続的に調べ、その推移を把握する必要があると思われる。

#### 文献

- 1) Beltchly, J. D.: Proceeding of PCB seminar, Ministry of Housing, Physical Planning and Environment, the Netherlands, pp.343-372 (1984).
- 2) 田辺信介: 21世紀の漁業と水産海洋研究. 水産海洋研究会, pp.218-227 (1991).
- 3) World Health Organization (WHO) press release: WHO experts re-evaluate health risks from dioxins (1998年6月3日).
- 4) Vreugdenhil H. J., Slijper F. M., Mulder P. G., Weisglas-Kuperus N.: Effects of perinatal exposure to PCBs and dioxins on play behavior in Dutch children at school age. *Environ. Health Perspect.* 110, A593-598 (2002).
- 5) 松村千里、鶴川正寛、中野 武、江崎達也、大橋 眞: キャピラリーカラム (HT-8PCB) によるPCB全異性体の溶出順位. *環境化学*, 12, 855-865 (2002).
- 6) 武 志保、劔持堅志、難波順子、門田 実: PCB全異性体分析法を用いた魚介類の実態調査. *岡山県環境保健センター年報*, 26, 65-72 (2002).
- 7) 梶原淳睦、堀 就英、飛石和大、芦塚由紀、中川礼子、戸高 尊、平川博仙、飯田隆雄: 一般健常人の血中異性体分析. *日本食品衛生学会第90回学術講演会講演要旨集*, p115、さいたま市 (2005).
- 8) Yamamoto, H., Yoshimura, H.: Metabolic studies on polychlorinated biphenyl. III. Complete structure and acute toxicity of the metabolites of 2,4,3',4'-tetra chlorobiphenyl. *Chem. Pharm. Bull.* 21, 2237-2242 (1973).
- 9) Masuda, Y., Haraguchi, K.: PCB and hydroxy PCB congeners in the blood of patients Yusho PCB poisoning. *Organohalogen Compounds*, 66, 2561-2565 (2004).
- 10) 桑原克義、松本比佐志、村上保行、堀 伸二郎: 19年間 (1977年~1995年) におけるトータルダイエットスタディー法による大阪在住成人のPCB及び有機塩素系農薬の1日摂取量の推移. *食品衛生学雑誌*, 38, 286-295 (1997).

(英文要旨)

## **Isomer specific determination of PCBs in edible fish samples**

**Tsuguhide HORI, Jumboku KAJIWARA, Daisuke YASUTAKE, Reiko NAKAGAWA**

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,  
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

We performed isomer specific determination of PCBs in fifteen edible fish samples collected in Fukuoka prefecture during 2006-2007. As a result, the total concentration of each PCB isomer (Total PCBs) was lower than the provisional regulation values issued by the Japanese government. Generally, distribution patterns of PCB isomers in fish samples were similar to those of typical PCB products, KC-500 and -600. The most dominant isomer detected in sea bream and yellow tail was found to be PCB153. This isomer was also identified as a major component also in human blood samples.

[ key words; fish and shellfish, polychlorinated biphenyls (PCBs), isomer, high resolution GC/MS ]