

図5 加熱調理した食品中の PAHs16 種濃度¹⁾(つづき)

¹⁾ 分析結果が LOQ 未満の場合はゼロとして表示

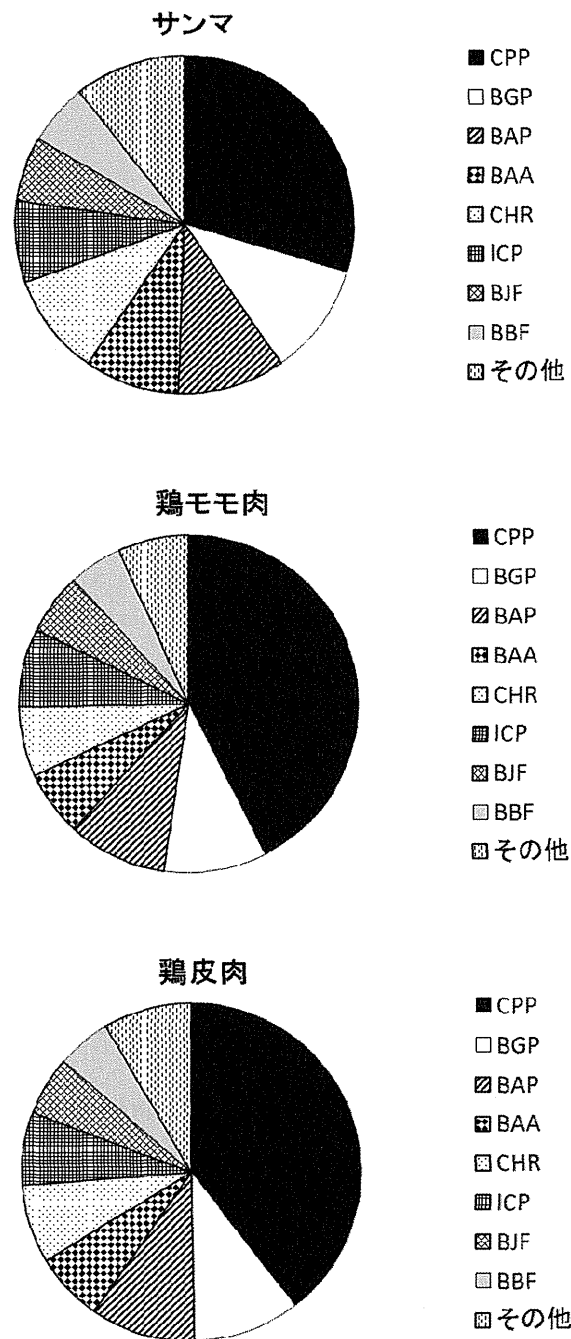


図 6 PAHs 濃度が高かった加熱食品の PAHs 組成(ガスグリル A)

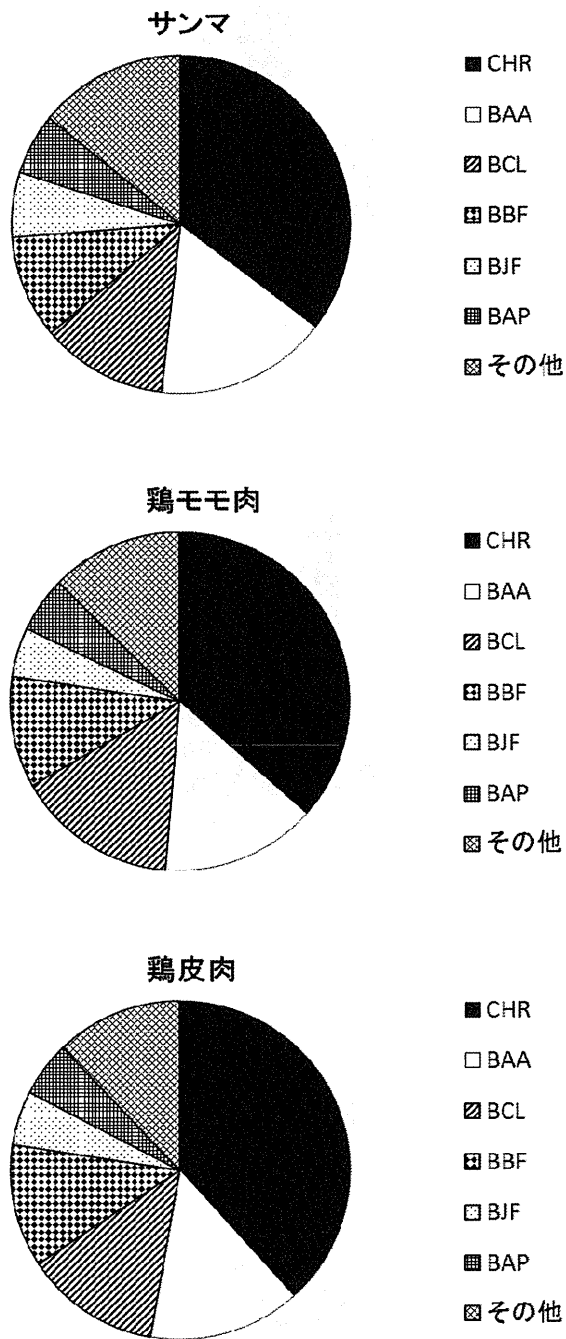


図 7 PAHs 濃度が高かった加熱食品 PAHs 組成(炭火焼き)

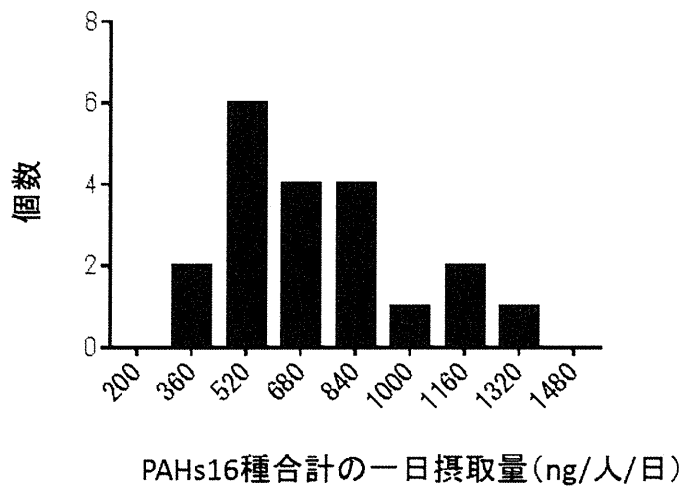
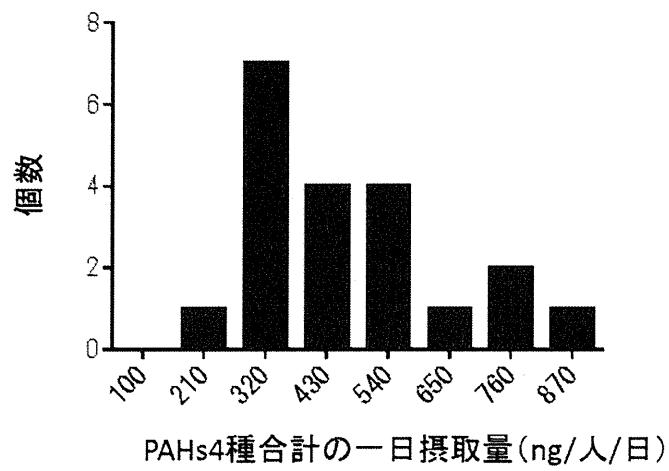
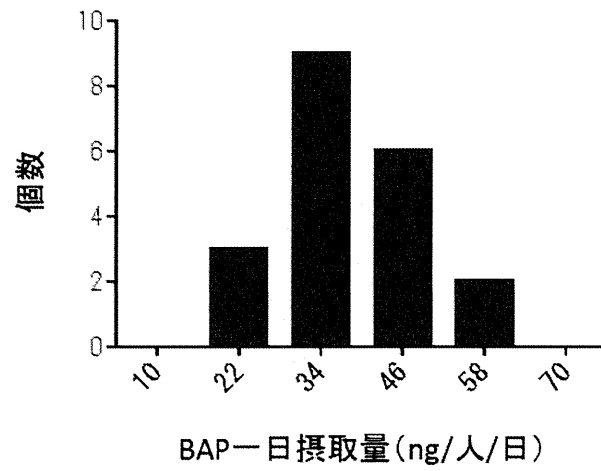


図 8 PAHs 一日摂取量のヒストグラム (ng/人/日)

各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究・研究報告書

有害物質濃度実態調査の部

PCB 代謝物による食品汚染実態調査

研究要旨

PCB 代謝物の一つである水酸化 PCBs(以下、OH-PCBs)による食品汚染実態を把握することを目的として、福岡県内で購入した魚介類試料について、OH-PCBs と PCB の分析を行った。

OH-PCBs 及び PCBs 分析では高速溶媒抽出法(ASE)を用いて魚介類から同時に抽出し、測定には高分解能ガスクロマトグラフ・質量分析計(HRGC/HRMS)を用いた。分析の結果、今年度調査した魚介類 24 試料すべてから OH-PCBs 及び PCBs が検出され、その OH-PCBs の合計濃度(Σ OH-PCBs)の範囲は、0.012 ng/g~0.44 ng/g(平均 0.072 ng/g)であり、PCBs の合計濃度(Σ PCBs)の範囲は 0.072 ng/g~91 ng/g(平均 18 ng/g)であった。

昨年度と今年度の 2 年間に調査した計 40 試料(10 種、n=4)の分析結果における OH-PCBs の同族体組成比から、OH-MoCBs と OH-DiCBs を主要同族体とする魚種、OH-PeCBs と OH-HxCBs を主要同族体とする魚種及び、OH-DiCBs と OH-PeCBs を主要異性体とする魚種の 3 グループに分類することができた。

40 試料中の Σ OH-PCBs/ Σ PCBs は、0.00036-0.21(平均 0.032)であり、市販されている魚介類中の OH-PCBs は PCB に比べて低濃度であり、魚種内でも魚種間でも明確な違いは確認できなかった。

研究協力者

福岡県保健環境研究所

安武大輔、堀 就英、高橋浩司

A. 研究目的

生物試料や水底質等の媒体から、種々の PCB 代謝物を検出した事例が報告されており¹⁾⁻⁵⁾、ヒトの血液や内臓組織等からも PCB 代謝物が検出されている⁶⁾⁻⁹⁾。PCB 代謝物は、環境中に残留する PCB が生物により代謝されて生成し、一部の

PCB 代謝物は母化合物の PCB よりも強い毒性を有することが報告されている¹⁰⁾⁻¹¹⁾。OH-PCBs は代表的な PCB 代謝物であり、ヒトの体内で甲状腺ホルモンや女性ホルモンなどの作用に影響すると考えられ、その毒性が懸念されている¹²⁾⁻¹³⁾。

現在までに食品中の PCB 代謝物の分析法は確立されておらず、当該物質による食品汚染度や残留実態は明らかでない。食品の PCB 代謝物による汚染実態調査は、ヒトによる PCB 代謝物の摂取やヒトの体内における代謝を理解する上で非常に重要である。

本研究では PCB 代謝物である OH-PCBs と親化合物である PCBs について、市販されている食用魚試料の汚染実態調査を行い、魚中の PCB と OH-PCBs 濃度を比較した。

B. 研究方法

1 試料・試薬等

1.1 試料

平成 27 年度に福岡県内の食料品店で購入した鮮魚 24 試料を調査対象とした(表 1)。各々の可食部を採取し、細切・均質化したものを試料とし、分析に用いた。

1.2 標準物質

本研究で使用した標準液に含まれる PCB 異性体を表 2 示す。38 種類の OH-PCBs 標準液はすべて Accu Standard 製をノナンで 100 ng/mL に希釈して用いた。OH-PCBs 測定用クリーンアップスパイクは Wellington Laboratories 製の 6 種混合標準液(MHPCB-MXA)と Accu Standard 製の各化合物の標準液をアセトニトリルで 100 ng/mL に調製して使用した。

68 種類の PCBs 標準液と 20 種類の

$^{13}\text{C}_{12}$ -PCBs 標準液は Wellington Laboratories 製を用いた。HRGC/HRMS 測定用標準液はノナンで 1 ng/mL、PCB 測定用クリーンアップスパイク標準液はノナンで 100 ng/mL に希釈して用いた。OH-PCBs 及び PCBs 測定におけるシリジンスパイクは Wellington Laboratories 製の $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',5,5'-pentachlorobiphenyl($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB111)をノナンで 50 ng/mL に希釈して用いた。

1.3 試薬及び器材

アセトン、ヘキサン、ジクロロメタン、メタノール、アセトニトリル、ノナン、ジエチルエーテル、エタノール、蒸留水(ヘキサン洗浄品)、無水硫酸ナトリウム及び塩化ナトリウムは関東化学製のダイオキシン類分析用又は残留農薬・PCB 試験用を用いた。硫酸は和光純薬工業製の有害金属測定用、水酸化カリウムは和光純薬工業製の特級、硫酸ジメチルは関東化学製の鹿一級を使用した。ガラスビーズは、0.991~1.397mm の粒度のソーダガラス製(AZ ONE 製 BZ-1)を使用した。フロリジルカートリッジカラムは Waters 製の Sep-pak Florisil plus cartridge(910 mg)及び Sep-pak Vac RC (500 mg)を使用した。

2 機器及び使用条件

2.1 高分解能ガスクロマトグラフ・質量分析計(HRGC/HRMS)

HRGC/HRMS の GC は Agilent 製 6890N

を MS は Waters 製 AutoSpec Premier を使用した。PCBs 及び OH-PCBs の測定条件は表 3 のとおりとした。

2.2 高速溶媒抽出装置

魚介類からの PCB と OH-PCB の抽出では、DIONEX 製の高速溶媒抽出(ASE)を使用した。

3 実験操作

3.1 魚中の PCBs 及び OH-PCBs の同時分析方法の検討

魚中の PCB 及び OH-PCBs の分析では、抽出に ASE を使用し、前処理により PCB 画分と OH-PCBs 画分に分離した。PCB と OH-PCBs の分離では、フロリジルカラムによる分画及びアルカリ水溶液による分配を検討した。

3.1.1 フロリジルカラム分画による PCBs 及び OH-PCBs の分析方法

魚中の PCB 及び OH-PCBs の分析は、先山らの方法を改変し、図 1 に示す操作フローに従って実施した²⁾。

試料は、均質化した試料約 10 g を特注ビーカー(直径 9 cm、高さ 7 cm)に精秤し、-20℃で凍結した後、凍結乾燥機(VIRTIS 社製 AD2.0 ES-BC)で約 36 時間かけて凍結乾燥させた。凍結乾燥させた試料をスパーテルで細かく砕き、洗浄したガラスビーズを混ぜながら高速溶媒抽出装置の抽出セル(99 mL)に充填した。PCBs 測定

用及び OH-PCBs 測定用クリーンアップスパイクをそれぞれ 500 pg 添加した後、高速溶媒抽出を行った。抽出条件を表 4 に示す。

抽出液を 200 mL 容ナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレーターで約 1 mL もしくは溶媒が蒸発しなくなるまで濃縮した。この濃縮液を、風袋を量った 100 mL ビーカーに移し、室温下で一晩静置して大部分の有機溶媒を揮散させた。放冷後重量を測定し、得られた抽出残渣(脂肪成分)の重量を求めた。

抽出残渣を少量のヘキサンで再溶解し、ヘキサンで 4 mL にメスアップした。なお、脂肪量の多い試料は、ヘキサンで 8 mL にメスアップした。

魚中に含まれる脂肪分等の妨害成分を除去するため、アセトニトリル/ヘキサン分配を行った。メスアップしたヘキサンの 1/2 量を分取し(4 mL メスアップであれば、2 mL を分取)、倍量のヘキサン飽和アセトニトリルを加えて混合した後、(分取量が 2 mL の場合は、4 mL のヘキサン飽和アセトニトリルを添加)、3,000 rpm で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル/ヘキサン分配による脱脂を行った。アセトニトリル層を別のスピッツ管に移した。再度、ヘキサン層に同量のヘキサン飽和アセトニトリルを加えて、同様の操作を合計 3 回行い、アセトニトリル層を 10 mL 共栓スピッツ管に集めた。集めたアセトニトリル層を窒素ガスで濃縮乾固し、

ヘキサンに置換し、約 1 mL のヘキサン溶液とした。

フロリジルによる分画では、Sep-pak Plus Florisil(900 mg)を使用し、0.5 % ジエチルエーテル/ヘキサン 10 mL でコンディショニングした。フロリジルカラムに上記の 1 mL ヘキサン層を負荷し、0.5 % ジエチルエーテル/ヘキサン 6 mL で溶出した画分を PCBs 画分とした。次いで、50 % アセトン/メタノール 8 mL で溶出した画分を OH-PCBs 画分とした。

3.1.1.1 PCBs 分析(フロリジルカラムによる PCBs 画分)

PCBs分析では、硫酸処理及びフロリジル精製を行った。PCBs画分を窒素ガスで約 2 mLに濃縮し、濃硫酸 2 mLを添加して、硫酸処理を行った。硫酸処理は硫酸層の着色がなくなるまで繰り返して行い、最終的に硫酸を添加して、一晩放置した。硫酸処理後のヘキサン層に対して窒素ガス気流による濃縮を行った。最終的に10 mL容先細型スピッツ管内で全量約1 mLに濃縮し、フロリジルカラムによる精製に供した。

2回目のフロリジル精製ではSep-pak Vac RC Florisil(500 mg)を使用し、ヘキサン10 mLでコンディショニングした。カラムに上記のヘキサン層を負荷し、ヘキサン 6 mLで溶出した。得られた溶出液を窒素ガス気流で穏やかに約0.1 mLまで濃縮し、ヘキサン1 mLを添加し、再度、約0.1

mLまで濃縮した。この操作を計3回行い、濃縮液をヘキサン0.2 mLに置換した。得られた濃縮液を窒素ガスで濃縮し、測定バイアルに移し、シリンジスパイク($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB111 を250 pg相当)を添加した。ノナンで全量を約50 μL としたものを最終検液とし、このうち1 μL をHRGC/HRMSに注入して測定した。

3.1.1.2 OH-PCBs分析(フロリジルカラム精製によるOH-PCBs画分)

OH-PCBs分析では、誘導体化(メチル化)・アルカリ処理及びフロリジル精製を行った。スピッツ管内のOH-PCBs画分を窒素ガス気流で穏やかに濃縮乾固した。OH-PCBsの誘導体化(メチル化)では、上記スピッツ管に硫酸ジメチル0.5 mLを添加し、3 mol/L KOH/エタノール(10%含水)3.5 mLを発泡に注意し、少量ずつボルテックスで攪拌しながら添加し、70 $^{\circ}\text{C}$ で1時間静置した。静置後、5% NaCl水溶液 4 mLを加え、ヘキサン 2 mLで2回振とうし、誘導体化された OH-PCB(以下、OMe-PCBs)を抽出した。そのヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、窒素ガス気流で穏やかに1 mLまで濃縮した。2回目のフロリジル精製では、Sep-pak Plus Florisil(900 mg)を使用し、5 %ジエチルエーテル/ヘキサン10 mLでコンディショニングした。フロリジルカラムに上記の1 mLヘキサン層を負荷し、5 %ジエチルエーテル/ヘキサン8 mLでOMe-PCBsを10

mLスピッツ管に溶出した。得られた溶出液を窒素ガス気流で穏やかに濃縮し、濃縮液を測定バイアルに移し、シリンジスパイク($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB111を250 pg相当)を添加した。ノナンで全量を約50 μL としたものを最終検液とし、このうち1 μL をHRGC/HRMSに注入し、OMe-PCBsとして定量した。

3.1.2 アルカリ分配による PCBs 及び OH-PCBs の分析方法

PCB 及び OH-PCBs のアルカリ水溶液による分配は、Hovander らの方法を改変し、図 2 に示す操作フローに従って実施した¹⁴⁾。

3.1.1 と同様に、均質化した試料約 10 g を精秤し、凍結乾燥させた。凍結乾燥後、クリーンアップスパイクを 500 pg 添加し、高速溶媒抽出を行った。抽出液を濃縮し、ヘキサンで 4 mL にメスアップし、うち 2 mL をスピッツ管に移し、アルカリ分配に使用した。上記 2 mL のヘキサンに 1 mol/L KOH 水溶液 2 mL を添加し、ボルテックスで攪拌し、遠心分離によりヘキサン層と KOH 層に分離した。このとき、ヘキサン層を PCBs 画分とし、KOH 層を OH-PCBs 画分とした。

3.1.2.1 PCBs 分析(アルカリ分配による PCBs 画分)

上記ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムにより脱水し、これ以降については、

3.1.1.1 と同様に処理した。

3.1.2.2 OH-PCBs 分析(アルカリ分配による OH-PCBs 画分)

上記、約 2 mL KOH 層に 2 mol/L 塩酸水溶液 4 mL を加えて酸性化した。次に、水相に 50%ジエチルエーテル/ヘキサンを 3 mL 添加し、ボルテックスで攪拌し、3,000 rpm で 5 分間遠心分離することで、有機層に OH-PCBs を抽出した。有機層をスピッツ管に移し、再度、水層に 50%ジエチルエーテル/ヘキサンを添加し、合計 3 回抽出を行った。有機層を窒素ガスにより濃縮乾固し、3.1.1.2 と同様に処理した。

C. 研究結果及び考察

1 フロリジルカラム分画及びアルカリ水溶液分配による PCBs と OH-PCBs の分離検討

PCBs と OH-PCBs の分離検討では、フロリジルカラムによる分画とアルカリ水溶液による分配を比較した。各分離のブランク試験 ($n=3$) における PCBs と OH-PCBs のクリーンアップスパイクの回収率を表 5 に示す。PCBs では各分離ともに、すべてのクリーンアップスパイクの回収率は 50~120%の範囲内であった。また、分離法内でのバラツキも少なく、分離法による明確な差は確認できなかった。アルカリ水溶液分配による OH-PCBs では、五塩素以上の OH-PCBs

のクリーンアップスパイクの回収率は50～120%の範囲内であったが、低塩素OH-PCBsのクリーンアップスパイクの回収率は50%以下と低く、バラツキも大きかった。フロリジル分画によるOH-PCBsでは、すべてのクリーンアップスパイクの回収率は50～120%の範囲内にあり、バラツキも小さかった。したがって、ブランク試験では、フロリジルカラムによる分画が有効であることが分かった。

次に、魚の中でも比較的低脂肪であるタラと比較的高脂肪である大トロを用いて、フロリジルカラムによる分画とアルカリ水溶液による分配を比較した。各分離におけるタラと大トロのOH-PCBsのクリーンアップスパイクの回収率を表6に示す。フロリジルカラムによる分画によるOH-PCBsのクリーンアップスパイクの回収率は、タラではすべての異性体で50～120%の範囲内にあり、大トロではOH-DiCBが43%であったが、他の異性体は50～120%の範囲内であった。アルカリ水溶液分配によるOH-PCBsのクリーンアップスパイクの回収率は、タラではOH-DiCB及びOH-TrCBが50%以下であり、他の異性体は50～120%であった。大トロではすべての異性体の回収率が20%以下であった。

ブランク試験及び実試料を用いたPCBsとOH-PCBsの分離検討によりフロリジルカラムによる分画が有効であるこ

とが確認できた。したがって、魚中のPCBsとOH-PCBsの同時分析では、フロリジルカラムによる分画を用いた分離法を使用した。

2 市販魚介類試料中のPCBs濃度

魚24試料のPCBsの同族体分析結果を表7に示す。表7に示した魚のPCBs濃度(Σ PCBs濃度)は、一塩素化ビフェニル(以下、MoCBs)、を除く206異性体から算出した。24試料における二塩化ビフェニル(以下、DiCBs)濃度は平均0.059 ng/g (ND-0.20 ng/g)、三塩素化ビフェニル(以下、TrCBs)濃度は平均0.51 ng/g (ND-2.7 ng/g)、四塩素化ビフェニル(以下、TeCBs)濃度は平均2.2 ng/g (ND-15 ng/g)、五塩素化ビフェニル(以下、PeCBs)濃度は平均4.6 ng/g (0.020-25 ng/g)、六塩素化ビフェニル(以下、HxCBs)濃度は平均7.2 ng/g (0.036-39 ng/g)、七塩素化ビフェニル(以下、HpCBs)濃度は平均2.4 ng/g (0.011-12 ng/g)、八塩素化ビフェニル(以下、OcCBs)濃度は平均0.44 ng/g (0.0023-2.0 ng/g)、九塩素化ビフェニル(以下、NoCBs)濃度は平均0.032 ng/g (ND-0.17 ng/g)、十塩素化ビフェニル(以下、DeCB)濃度は平均0.028 ng/g (ND-0.12 ng/g)であった。 Σ PCBs濃度(以下、 Σ PCBs)は平均で18 ng/gであり、タラで最小0.072 ng/g、大トロで最大91 ng/gであり、これまでの報告と同様に、脂肪含量が高いほど Σ PCBsが高くなる傾向にあった¹⁵⁾。

魚 24 試料における PCBs 濃度を各異性体の平均濃度で評価した場合、定性可能な異性体のうち PCB101、PCB118、PCB149、PCB161、PCB153、PCB164/163、PCB138、PCB182 及び PCB180/193 が主要な異性体であった。

3 市販魚試料中の OH-PCBs 濃度

市販魚試料中の OH-PCBs 分析では、Native 体と Label 体の異性体を分析対象とした。また、同位体イオンとの強度比が一致するピークを未知の OH-PCBs として定量した。魚 24 試料の OH-PCBs の異性体別分析結果を表 8 に示す。なお、水酸化八塩素化ビフェニル及び水酸化九塩素化ビフェニルについても同時に分析したが、すべての試料でそれらに相当するピークは検出されなかった。4'-OH-CB159 及び 4'-OH-CB172 は、すべての試料で検出された。また、2'-OH-CB9、3'-OH-CB9、4'-OH-CB9、4-OH-CB14、2'-OH-CB5 及び 6'-OH-CB69 はすべての試料で未検出であった。魚 24 試料における各異性体の平均濃度で評価した場合、定性可能な異性体のうち 6-OH-CB2、4'-OH-CB93、4-OH-CB107、4-OH-CB146、3'-OH-CB138、4'-OH-CB159、4-OH-CB187 及び 4'-OH-CB172 が主要な異性体であった。五塩素以上の OH-PCBs の主要異性体については Buckman ら¹⁶⁾や Hasegawa ら¹⁷⁾の報告と同様であった。魚 24 試料では、水酸化一塩素化ビフェニル

(以下、OH-MoCBs)濃度は 平均 0.0055 ng/g(ND-0.020 ng/g)、水酸化二塩素化ビフェニル (以下、OH-DiCBs)濃度は平均 0.030 ng/g(ND-0.23 ng/g)、水酸化三塩素化ビフェニル(以下、OH-TrCBs)濃度は平均 0.00049 ng/g(ND-0.0050 ng/g)、水酸化四塩素化ビフェニル(以下、OH-TeCBs)濃度は平均 0.0014 ng/g(0.00017-0.0080 ng/g)、水酸化五塩素化ビフェニル(以下、OH-PeCBs)濃度は平均 0.025 ng/g(0.0020-0.21 ng/g)、水酸化六塩素化ビフェニル(以下、OH-HxCBs)濃度は平均 0.0056 ng/g(0.0041-0.010 ng/g)、水酸化七塩素化ビフェニル(以下、OH-HpCBs)濃度は平均 0.0047 ng/g(0.0026-0.015 ng/g)であった。ΣOH-PCBs 濃度は平均で 0.075 ng/g であり、イワシで最小 0.012 ng/g、大トロで最大 0.44 ng/g ww であった。

4 平成 26 年度調査及び平成 27 年度調査における PCBs 濃度のまとめ

平成 26 年度における市販魚 16 試料と平成 27 年度における市販魚 24 試料の調査結果から、10 種の魚について各 4 試料分の分析結果が得られた。10 種の魚における各 4 試料分の PCBs 濃度の平均を表 9 に示す。また、各魚種の PCBs の同族体組成比を図 3 に示す。また、武らが報告している PCB 製品中の PCB 塩素数別組成比を表 10 に示す¹⁸⁾。表 9 に示す総 PCB 濃度は平均 17 ng/g(0.16-60 ng/g)であり、スズキ、大トロ、サバで高く、イ

ワシ、タラで低い傾向にあった。今回の調査では、PCB 濃度が暫定規制値(3 mg/kg)を超過する試料は発見されず、これまで報告されている結果の範囲内であった^{15),18)}。

同族体組成比ではすべての魚種で類似しており、タチウオを除くすべての魚種で HxCBs の比率が最も高く、次いで、PeCBs が高かった。タチウオでは HxCBs の比率が最も高く、次いで、HpCBs が高かった。これらの結果は、表 10 に示す KC500-KC600(1:1)の塩素数別組成比に類似しており、環境中に蓄積している PCB 工業製品由来による生物濃縮が原因と考えられる。

5 平成 26 年度調査と平成 27 年度調査における OH-PCBs 濃度のまとめ

PCBs と同様に、平成 26 年度における市販魚 16 試料と平成 27 年度における市販魚 24 試料の調査結果から 10 種の魚について 4 試料分の分析結果が得られた。10 種の魚における 4 試料分の OH-PCBs の平均濃度(表 11)と平均の同族体組成比(図 4)を算出した。

Σ OH-PCBs は、平均 0.096 ng/g (0.016-0.38 ng/g)であり、アジ、大トロ及びサバで高く、スズキ、タイ及びタラで低い傾向にあった。また、 Σ OH-PCBs は、我々がこれまで調査してきた魚介中のポリ臭素化ジフェニルエーテル類(以下、PBDEs)やヘキサブプロモシクロドデカン

(以下、HBCDs)と比較して低かった¹⁹⁾⁻²⁰⁾。堀内らが報告する魚類の血液中の OH-PCBs 濃度と本研究で得られた Σ OH-PCBs とは同様の値となった²¹⁾。

同族体組成比では、すべての試料において OH-TrCBs 及び OH-TeCBs の検出頻度が低かった。魚種内で同族体組成比のばらつきがあることや調査対象魚種が 10 種類と少量であるが、同族体組成比から 3 つのグループに分類することができた。イワシ、ブリ、アジ、サバ及びタチウオのグループ 1 では OH-DiCBs が主要同族体であり、なかでもイワシでは OH-MoCBs の比率も高かった。スズキ及びタラのグループ 2 では高塩素化体の比率が高く、大トロ及びマグロ赤身のグループ 3 では OH-DiCBs と OH-PeCBs の二つの同族体が支配的であった。タイは、グループ 1 とグループ 2 の中間であった。前述したように、一般的に、魚中 PCB の同族体分布では、魚種を問わず類似した同族体組成を示すが、OH-PCBs では魚種間に同族体分布の差が確認された。PCBs は生物濃縮により魚中に蓄積されるが、OH-PCBs は単に生物濃縮により蓄積されるだけでなく、PCBs が魚体内に取り込まれた後代謝され、新たな OH-PCBs が生成される。魚種による OH-PCBs 代謝能の差が、魚種間で異なる同族体組成に影響していると考えられる。

6 市販魚介類試料中の PCBs と

OH-PCBs の比較

魚 40 試料の Σ PCBs、 Σ OH-PCBs と Σ OH-PCBs/ Σ PCBs を表 12 に示す。市販されている魚中の Σ OH-PCBs は、 Σ PCBs に比べ非常に低かった。 Σ OH-PCBs/ Σ PCBs は、魚による PCBs の代謝能と OH-PCBs の保持能を評価する指標の一つであり、その比が 1 より大きい値の場合、その生物は代謝能、保持能が高いと考えられる。表 12 に示すように、 Σ OH-PCBs/ Σ PCBs は、平均で 0.032(範囲 ; 0.00036-0.21)あったが、魚種内でも魚種間でも明確な差は確認できなかった。堀内らは、魚類の血液中の Σ OH-PCBs/ Σ PCBs は、0.0040-0.52 であると報告している²¹⁾。魚種また試料採取地と調査部位が異なるが、本研究で得られた結果は、堀内らの調査結果と同じ傾向であった。

D. 結論

分析した魚 40 試料のすべてから PCBs が検出され、濃度範囲は 0.072 ng/g~91 ng/g(平均 14 ng/g)であり、魚種別ではスズキ、大トロやサバで濃度が高かった。タチウオを除く魚種には、PeCBs と HxCBs の異性体比が高かった。PCBs の調査結果は、これまで報告してきた結果^{15),18)}と類似していた。

分析した魚 40 試料のすべてから OH-PCBs が検出され、濃度範囲は 0.012 ng/g~0.56 ng/g(平均 0.098 ng/g)であった。

今回調査した 10 種類の魚種における OH-PCBs の同族体組成比から OH-MoCBs と OH-DiCBs を主要同族体とする魚種、OH-PeCBs と OH-HxCBs を主要同族体とする魚種及び、OH-DiCBs と OH-PeCBs を主要異性体とする魚種の 3 グループに分類することができた。魚種による主要同族体の違いは、OH-PCBs の代謝能が魚種により異なることを反映した結果だと推測された。

魚の Σ OH-PCBs/ Σ PCBs は、0.00036-0.21(平均 0.032)であり、市販されている魚中の Σ OH-PCBs は Σ PCB に比べて低かった。

OH-PCBs の一部の異性体は、親化合物である PCB に比べ毒性が高く²²⁾、体内への蓄積性を有することが確認されている^{9),23)}。これまでに、市販されている魚から OH-PCBs を検出し定量した報告はほとんどなかった。しかし、本研究により、PCBs に比べ低濃度であるが魚は OH-PCBs を含んでおり、ヒトは魚の摂食を介して PCBs と OH-PCBs を摂取していることが明らかとなった。ヒトの体内に存在する OH-PCBs の毒性影響を考察する場合には、ヒト体内での代謝による生成だけでなく、食品に含まれ摂食により体内に取り込まれる OH-PCBs 量についても考慮する必要があることを示唆する結果である。本研究により得られた食品に OH-PCBs が含まれることを示す新規知見は貴重である。今後、OH-PCBs の毒

性に関する新規知見が得られる等の状況の変化によっては、継続調査が必要と考えられる。

E 参考文献

- 1) Ueno D., Darling C., Alaei M., Campbell L., Pacepavicius G., Teixeira C., Muir D. Detection of Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls (OH-PCBs) in the Abiotic Environment: Surface Water and Precipitation from Ontario, Canada. *Environ. Sci. Technol.* (2007) 41, 1841-1848.
- 2) Sakiyama T, Yamamoto A, Kakutani N, Fukuyama J, Okumura T. Hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the aquatic environment : levels and congener profiled in sediments from Osaka, Japan. *Organohalogen Compounds* (2007) 69, 1380-1383.
- 3) Kunisue T., Tanabe S. Hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of mammals and birds from Japan: lower chlorinated OH-PCBs and profiles. *Chemosphere* (2009) 74, 950-961.
- 4) Linda M. Campbell, Derek C. G. Muir, D. Mike Whittle, Sean Backus, Ross J. Norstrom, and Aaron T. Fisk. Hydroxylated PCBs and other chlorinated phenolic compounds in lake trout (*Salvelinus namaycush*) blood plasma from the great lakes region. *Environ. Sci. Technol.* (2003) 37, 1720-1725.
- 5) 難波智史、松田宗明、河野公栄、森田昌敏 水生生物とその周辺環境中における水酸化 PCB の挙動 第 18 回環境化学討論会要旨集、(2009)438-439.
- 6) M. F. Fernandes, H. Kiviranta, J. M. Molina-Molina, O. Laine, M. J. Lopez-Espinosa, T. Vartiainen, N. Olea. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and hydroxy-PCBs in adipose tissue of women in Southeast Spain. *Chemosphere* (2008) 71, 1196-1205.
- 7) Nomiyama K, Yonahara T, Yonemura S, Yamamoto M, Koriyama C, Akiba S, Shinohara R and Koga M, Determination and characterization of Hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in serum and adipose tissue of Japanese women diagnosed with breast cancer. *Environ. Sci. Technol.* (2010) 44, 2890-2896.
- 8) Tobiishi K, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Hirata T, Iida T, Uchi H and Furue M, Determination of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of yusho patients by LC/MS/MS. *Organohalogen Compounds* (2011) 73, 1608-1610.
- 9) Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J, Norstrom RJ Analysis of hydroxylated metabolites of PCBs (OH-PCBs) and other chlorinated phenolic compounds in whole

- blood from Canadian Inuit. *Environ Health Perspect* (2000) 108, 611-616.
- 10) Yamamoto H, Yoshimura H. Metabolic studies on polychlorinated biphenyl III: complete structure and acute toxicity of the metabolites of 2,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl. *Chem. Pharm. Bull.* (1973) 21, 2237-2242.
- 11) William P. Flanagan, Ralph J. May, Metabolite detection as evidence for naturally occurring aerobic PCB biodegradation in Hudson River sediments. *Environ. Sci. Technol.* (1993) 27, 2207-2212.
- 12) 黒田純子、永田功、黒田洋一郎 低濃度水酸化PCBによる甲状腺ホルモン依存性小脳プルキンエ細胞発達分化の阻害. 環境ホルモン学会研究発表会要旨集、6、374.
- 13) Kitamura S, Jinno N, Suzuki T, Sugihara K, Ohta S, Kuroki H, Fujimoto N. Thyroid hormone-like and estrogenic activity of hydroxylated PCBs in cell culture. *Toxicology* (2005) 208, 377-387
- 14) Hovander L., Athanasiadou M., Asplund L., Jensen S., Klasson-Wehler E., Extraction and Cleanup methods for analysis of Phenolic and neutral organohalogens in plasma. *J. Anal. Toxicol.* (2000) 24, 696-703.
- 15) 堀 就英、梶原淳睦、安武大輔、中川 礼子 魚介類中 PCBs の異性体分離分析 福岡県保健環境研究所年報 (2008) 35, 77-82.
- 16) Buckman H. A., Wong S. C, Chow A. E., Brown B. S., Solomon R. K. and Fisk T. A. Biotransformation of polychlorinated biphenyls (PCBs) and bioformation of hydroxylated PCBs in fish. *Aquatic Toxicology* (2006) 78, 176-185.
- 17) Hasegawa J, Matsuda M, Ohnishi M, Enomoto T, Kawano M and Wakimoto T, PCBs and hydroxylated PCB metabolites in the tissues of wild birds and fish prey from Japan. *Organohalogen Compounds* (2007) 69, 1495-1498.
- 18) 武 志保、劔持堅志、難波順子、門田 実 岡山県環境保健センター年報 (2002) 26, 65-72.
- 19) 平成 23 年度厚生労働科学研究 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に関する研究」(分担研究: 食品における有機臭素系化合物の汚染調査)
- 20) 平成 24 年度厚生労働科学研究 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に関する研究」(分担研究: 食品における有機臭素系化合物の汚染調査)
- 21) 堀内聡子、内山幸子、野見山桂、篠原 亮太 魚類中の PCBs 及び OH-PCBs について. 第 19 回環境化学討論会講演要

旨集、462-463.

- 22) Fielden MR, Chen I, Chittim B, Safe SH, Zacharewski TR Examination of the estrogenicity of 2,4,6,2',6' -pentachloro biphenyl (PCB104), its hydroxylated metabolite 2,4,6,2',6' -pentachloro-4-biphenylol (OH-PCB104) , and further chlorinated derivative, 2,4,6,2',4',6' - hexachlorobiphenyl (PCB155). *Environ. Health Perspect.* (1997) 105, 1238-1248.
- 23) Hovader L, Malmberg T, Athanasiadou M, Athanassiadis I, Rahm S, Bergman Å, Klasson-Wehler E. Identification of hydroxylated PCB metabolites and other phenolic halogenated pollutants in human blood plasma. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* (2000) 42, 105-117.

F. 研究業績

1. 論文発表

Yasutake D, Hori T, Takahashi K, Kajiwara J and Watanabe T, Concentration of

polychlorinated biphenyls (PCBs) and hydroxylated PCBs in seafood samples collected in Kyusyu district, Japan. *Organohalogen Compounds* (2015) 77, 386-389.

2. 学会発表

Yasutake D, Hori T, Takahashi K, Kajiwara J and Watanabe T, Concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) and hydroxylated PCBs in seafood samples collected in Kyusyu district, Japan. 35st International Symposium on Halogenated persistent Organic Pollutants. (2015.8)

表 1 分析に用いた魚試料

No	Sample	Production regions	Fat content (%)	No	Sample	Production regions	Fat content (%)
1	Sardine-1	Hokuriku	20	13	Ootoro-1	Kyushu	48
2	Sardine-2	Tohoku	21	14	Ootoro-2	Kyushu	18
3	Sardine-3	Tohoku	14	15	Ootoro-3	Hokkaido	18
4	Yellowtail-1	Kyushu	14	16	Tune-1	Kyushu	2.5
5	Yellowtail-2	Kyushu	12	17	Tune-2	Kyushu	0.97
6	Yellowtail-3	Kyushu	3.9	18	Tune-3	Hokkaido	3.5
7	Mackerel-1	Kyushu	8.2	19	Cod-1	Tohoku	0.34
8	Mackerel-2	Kyushu	6.3	20	Cod-2	Hokkaido	0.21
9	Japanese seabass-1	Kyushu	3.9	21	Cod-3	Hokkaido	0.29
10	Japanese seabass-2	Kyushu	0.35	22	Largehead hairtail-1	Chugoku-Shikoku	1.6
11	Sea bream-1	Kyushu	3.1	23	Largehead hairtail-2	Kyushu	6.2
12	Sea bream-2	Kyushu	2.0	24	Largehead hairtail-3	Kyushu	6.6

表 2-1 PCBs 測定用標準物質一覧

PCB測定用標準物質	
Native体標準物質	
TrCBs	PCB29、PCB28、PCB37
TeCBs	PCB52、PCB49、PCB47、PCB44、PCB71、PCB63 PCB74、PCB70、PCB66、PCB60、PCB56
PeCBs	PCB95、PCB92、PCB101、PCB99、PCB117、PCB87、PCB85 PCB110、PCB107、PCB123、PCB118、PCB114、PCB105
HxCBs	PCB151、PCB135、PCB147、PCB139、PCB134、PCB165 PCB146、PCB132、PCB153、PCB141、PCB137、PCB130 PCB164、PCB138、PCB128、PCB167、PCB156、PCB157
HpCBs	PCB179、PCB178、PCB182、PCB183、PCB181、PCB177 PCB172、PCB180、PCB191、PCB170、PCB189
OcCBs	PCB202、PCB201、PCB200、PCB198、PCB203、PCB195、PCB194、PCB205
NoCBs	PCB208、PCB207、PCB206
DeCBs	PCB209
Label体クリーンアップスパイク	
TrCBs	¹³ C ₁₂ -PCB28、 ¹³ C ₁₂ -PCB37
TeCBs	¹³ C ₁₂ -PCB52、 ¹³ C ₁₂ -PCB70
PeCBs	¹³ C ₁₂ -PCB95、 ¹³ C ₁₂ -PCB101、 ¹³ C ₁₂ -PCB123、 ¹³ C ₁₂ -PCB118 ¹³ C ₁₂ -PCB114、 ¹³ C ₁₂ -PCB105
HxCBs	¹³ C ₁₂ -PCB153、 ¹³ C ₁₂ -PCB138、 ¹³ C ₁₂ -PCB157
HpCBs	¹³ C ₁₂ -PCB178、 ¹³ C ₁₂ -PCB180、 ¹³ C ₁₂ -PCB170、 ¹³ C ₁₂ -PCB189
OcCBs	¹³ C ₁₂ -PCB194
NoCBs	¹³ C ₁₂ -PCB206
DeCBs	¹³ C ₁₂ -PCB209
Label体シリングススパイク	
PeCB	¹³ C ₁₂ -PCB111

表 2-2 OH-PCBs 測定用標準物質一覧

OH-PCB測定用標準物質	
Native体標準物質	
OH-MoCBs	6-OH-CB2、4-OH-CB1、4-OH-CB2、4'-OH-CB3
OH-DiCBs	2'-OH-CB9、3'-OH-CB9、4'-OH-CB9 4-OH-CB14、2'-OH-CB5、2'-OH-CB12
OH-TrCBs	2'-OH-CB30、6'-OH-CB18、3'-OH-CB30、4'-OH-CB2、4'-OH-CB30
OH-TeCBs	2'-OH-CB61、2'-OH-CB65、6'-OH-CB69、3'-OH-CB613'-OH-CB65 4'-OH-CB50、4'-OH-CB61、4'-OH-CB69、4'-OH-CB72、4'-OH-CB65
OH-PeCBs	6'-OH-CB101、4'-OH-CB121、6'-OH-CB112、4'-OH-CB93、3'-OH-CB101 4'-OH-CB101、6'-OH-CB106、4'-OH-CB86、4'-OH-CB112、4'-OH-CB106
OH-HxCBs	4'-OH-CB165、4'-OH-CB159
OH-HpCBs	4'-OH-CB172
Label体クリーンアップスパイク	
OH-DiCBs	4'- ¹³ C ₁₂ -OH-CB12
OH-TrCBs	4'- ¹³ C ₁₂ -OH-CB29
OH-TeCBs	4'- ¹³ C ₁₂ -OH-CB61
OH-PeCBs	4'- ¹³ C ₁₂ -OH-CB120、4'- ¹³ C ₁₂ -OH-CB107
OH-HxCBs	4'- ¹³ C ₁₂ -OH-CB146、3'- ¹³ C ₁₂ -OH-CB138、4'- ¹³ C ₁₂ -OH-CB159
OH-HpCBs	4'- ¹³ C ₁₂ -OH-CB187、4'- ¹³ C ₁₂ -OH-CB172
Label体シリングスパイク	
PeCB	¹³ C ₁₂ -PCB111

表3 PCBs及びOH-PCBsのHRGC/HRMS測定条件

PCBs測定条件					
GC条件					
注入口温度	280 °C				
注入方法	Splitless				
注入量	1 µL				
Heガス流量	1.3 mL/min.				
キャピラリーカラム	HT8PCB (60 m × φ0.25 mm)				
昇温条件	130°C(1min)→20°C/min→220°C→3°C/min →280°C→20°C/min→300°C				
イオン源温度	270 °C				
トランスファー温度	280 °C				
MS条件					
Injection 1			Injection 2		
PCBs	定量用	確認用	PCBs	定量用	確認用
DiCB	222.0003	223.9974	PeCB	325.8805	327.8776
TrCB	255.9613	257.9585	HxCB	359.8415	361.8385
TeCB	291.9195	289.9224	HpCB	393.8025	395.7996
OcCB	429.7606	427.7636			
NoCB	463.7217	461.7246			
DeCB	497.6827	499.6798			
クリーンアップスパイク(¹³ C ₁₂ -PCBs)			クリーンアップスパイク(¹³ C ₁₂ -PCBs)		
¹³ C ₁₂ -TrCB	268.0016	-	¹³ C ₁₂ -PeCB	337.9207	-
¹³ C ₁₂ -TeCB	303.9597	-	¹³ C ₁₂ -HxCB	371.8817	-
¹³ C ₁₂ -OcCB	441.8008	-	¹³ C ₁₂ -HpCB	405.8428	-
¹³ C ₁₂ -NoCB	475.7619	-			
¹³ C ₁₂ -DeCB	509.7229	-			
シリンジスパイク(¹³ C ₁₂ -PCB111)			シリンジスパイク(¹³ C ₁₂ -PCB111)		
¹³ C ₁₂ -PCB111	337.9207	-	¹³ C ₁₂ -PCB111	337.9207	-
OH-PCBs測定条件					
GC条件					
注入口温度	280 °C				
注入方法	Splitless				
注入量	1 µL				
Heガス流量	1.3 mL/min.				
キャピラリーカラム	HT8-PCB (60 m × φ0.25 mm)				
昇温条件	120°C(1min)→30°C/min→180°C→5°C/min →275°C→40°C/min→310°C				
イオン源温度	270 °C				
トランスファー温度	280 °C				
MS条件					
Injection 1			Injection 2		
OH-PCBs	定量用	確認用	OH-PCBs	定量用	確認用
OMe-MoCB	218.0498	220.0472	OMe-PeCB	355.8911	357.8882
OMe-DiCB	252.0109	254.0081	OMe-HxCB	389.8521	391.8492
OMe-TrCB	287.9691	289.9663	OMe-HpCB	423.8131	425.8102
OMe-TeCB	321.9301	319.9329			
クリーンアップスパイク(OH- ¹³ C ₁₂ -PCBs)			クリーンアップスパイク(OH- ¹³ C ₁₂ -PCBs)		
OMe- ¹³ C ₁₂ -DiCBs	264.0511	-	OMe- ¹³ C ₁₂ -PeCBs	365.9342	-
OMe- ¹³ C ₁₂ -TrCBs	300.0092	-	OMe- ¹³ C ₁₂ -HxCBs	399.8952	-
OMe- ¹³ C ₁₂ -TeCBs	333.9702	-	OMe- ¹³ C ₁₂ -HpCBs	433.8563	-
シリンジスパイク(¹³ C ₁₂ -PCB111)			シリンジスパイク(¹³ C ₁₂ -PCB111)		
¹³ C ₁₂ -PCB111	337.9207	-	¹³ C ₁₂ -PCB111	337.9207	-

表 4 高速溶媒抽出の条件

機器	DIONEX社製 ASE-350
抽出条件	オープン温度 100 °C
抽出圧力	1500 psi
抽出溶媒	ヘキサン
設定温圧保持時間	5 分
フラッシュ容積	セル容積の40 %
ガスパーズ時間	120 秒
静止サイクル数	2 回

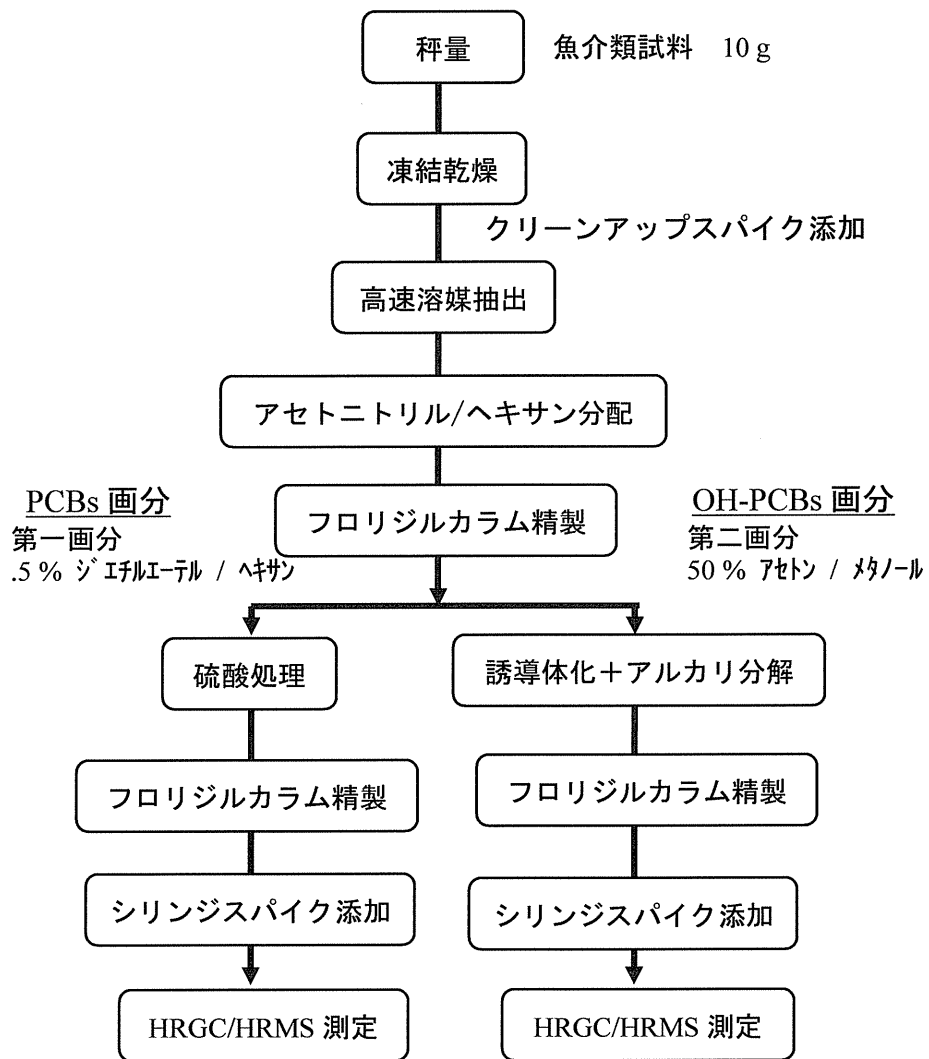


図 1 フロリジルカラム分画による PCBs 及び OH-PCBs の同時分析フロー