

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23310023

研究課題名(和文) PCB全異性体209種の超微量分析による非意図的生成PCB異性体の探索

研究課題名(英文) Investigation on unintentionally produced PCB congeners-Comprehensive trace analysis of all 209 PCB congeners

研究代表者

竹内 一郎 (TAKEUCHI, Ichiro)

愛媛大学・農学部・教授

研究者番号：30212020

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,000,000円、(間接経費) 4,500,000円

研究成果の概要(和文)：PCBsは強い毒性があるため日本では1970年代に製造等が禁止された。しかし、今なお日本近海の海洋生物中から検出されるほか、近年、北米大陸等では低塩素の非意図的に生成されたPCB異性体が大气や水等から検出されている。本研究では、日本近海等のスズキ類やサケ類等の魚類を対象に、非意図的に生成されたPCB異性体の探索を目的にPCB全異性体209種の超微量分析を実施した。その結果、これらの魚類から120～160種のPCB異性体が発見された。日本近海の魚類ではPCB製剤中でも多い#153等が優占していたが、マレーシアのバラマンディからは非意図的に生成された2塩素化体の#11が高い濃度で検出された。

研究成果の概要(英文)：Even though the use of polychlorinated biphenyls (PCBs) was banned in Japan during the 1970s owing to its highly toxic effects, PCBs are still detected in marine organisms around the Japanese coast. Moreover, unintentionally produced PCB congeners have been detected in air and water in North America. The present study was conducted to investigate the presence of unintentionally produced PCB congeners among salmon and seabass collected from Japan to Southeast Asia by trace analysis for all 209 PCB congeners. About 120 to 160 congeners were detected among these fish. #153 (a dominant congener of technical PCBs) was most dominant among fish along the Japanese coast. #11, a di-chlorinated congener, was detected in high concentrations among barramundi collected from the Strait of Malacca, Malaysia. This congener is thought to be an unintentionally produced PCB congener.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学 環境影響評価・環境政策

キーワード：環境 有害化学物質 PCBs 超微量分析 非意図的生成異性体

1. 研究開始当初の背景

残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約(POPs 条約)が2004年に発効し、ポリ塩化ビフェニール(PCBs)等の残留性有機汚染物質(POPs)による環境汚染の低減化を目的として、世界規模でそれらの製造・使用・輸出入の禁止または制限を実施していくことになった。

POPsのうちPCBsはその強い毒性があるため、POPs条約以前の1970年代に日本やアメリカ合衆国等では新たな製造・使用等が原則禁止された。しかし、日本近海の海洋生物中のPCBs濃度は、この10年間、有意な減少傾向を示していない(環境省2009)。

従来PCBsの汚染実態に関する研究では、全209異性体を分析した研究は少なく、代表的な研究でも30~90種程の異性体を分析していたのが現状であるが、我々の予備的な分析では、瀬戸内海から採集したスズキからは約150種の異性体が検出されることが明らかになった。

また、2010年には、アメリカ化学会が発行する学術誌“Environmental Science & Technology”でPCBsを対象とした新たな研究の特集号が発刊された。中でも、シカゴ等では、顔料工場等に由来すると考えられる非意図的に生成された2塩素化物の#11が Researchers find little-known PCB “pretty much everywhere”と述べられるほど、様々なところから検出されることが報告された(Fraser 2010)。よって、わが国においても顔料製造時等において低塩素化PCBs等が非意図的に生成されているのではと考えられはじめた。

また、PCBsの人への曝露は、PCB異性体のうち、特に強い毒性を有するコプラナーPCBsでの研究によると、食品、特に、魚介類の寄与が80%と極めて大きく、しかも、魚介類を多く食べる人は、曝露量が3~15倍程度にも増加することが報告されている(中西・小倉2008)。

よって、食物連鎖の上位に位置する魚介類のPCBsの全209異性体濃度の実態を解明することは、喫緊の重要な研究課題であると考えられたが、PCBs全異性体を対象とした超微量分析による非意図的に生成されたPCBsの濃度実態に関する研究は極めて少ないのが実情であった。

2. 研究の目的

1.の研究開始当初の背景により、日本近海域等の食物連鎖網の高次に位置する代表的な魚介類中のPCBsの全異性体209種の超微量分析を実施し、非意図的に生成されたPCB異性体濃度の実態を明らかにすることは、緊急を要する研究テーマであり、また、その長期蓄積性からPOPs条約規制を担保する上で極めて重要であると考えられる。

そこで、本研究では、中部日本から北日本

の各地よりサクラマス等のサケ・マス類を、西日本沿岸の各地よりスズキ類を採集し、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(HRGC/HRMS)等によるPCBsの異性体微量分析に供した。また、東南アジアのスズキ類も分析に供した。いずれの魚類も、PCBs等のPOPs濃度の生物モニタリングに使用されている生物群である(Hines et al. 2004、Carubelli et al. 2007等)。得られた異性体毎の濃度インベントリーを基に、既知のカネクロール等の製剤由来のPCBsデータ等を参照し、非意図的に生成されたと考えられるPCB異性体を探索した。

3. 研究の方法

本研究で、サケ・マス類では、北海道、岩手県、山形県、鳥取県から採集したサクラマス *Oncorhynchus masou masou* および岐阜県から採集したサツキマス *Oncorhynchus masou ishikawae* をPCB異性体の超微量分析に供した。スズキ類では、西日本の鳥取県、兵庫県、岡山県、高知県、熊本県等から採集したスズキ *Lateolabrax japonicus* および近縁の3種(ヒラスズキ *Lateolabrax latus*、養殖物のタイリクスズキ *Lateolabrax sp. A* および有明海産スズキ *Lateolabrax sp. B*)を、マレーシア等の東南アジア沿岸域から採集したバラマンディ *Lates calcarifer* 等を分析した。

分析法としては、これら魚類の筋肉部分約10gに1N KOH/エタノール溶液を加え、さらに¹³Cでラベルしたクリーンアップ回収率補正用の内部標準物質(PCB異性体#3、#15、#28、#52、#118、#153、#180、#194、#208および#209)、500pgを添加後、攪拌し、筋肉組織を分解させた。次に、ヘキサソール洗浄水およびヘキサソールを本溶液に加え振とうした後、上層のヘキサソール抽出液を分取した。さらにその抽出液中の妨害物質を除去するために濃硫酸でヘキサソール抽出液を洗浄し、その後、同抽出液中の硫酸残渣を除去するためにヘキサソール洗浄水で洗浄した。得られたヘキサソール抽出液はロータリーエバポレーターにより濃縮後、シリカゲルカラムおよびアルミナカラムを用い妨害物質の除去を行った。PCBs画分は50%ジクロロメタン/ヘキサソールを用いカラム溶離液として溶出させ、¹³Cでラベルした注入量補正用の内部標準物質(#70、#111および#138)を500pg添加し、デカンに転溶させた。PCBs209種の異性体はHRGC/HRMS(アジレントテクノロジー株式会社; HP6890シリーズ/日本電子株式会社; JMS-800D、-700D)等を用い選択イオンモニタリング(SIM)によって分析した。クリーンアップ回収率補正用の内部標準物質の平均回収率は良好な結果が得られた。

本分析結果を基に、各魚類試料毎のPCBs全異性体の濃度分布インベントリーを作成し、非意図的に生成されたPCB異性体を探索した。

日本のサケ・マス類は、静岡県等で養殖されているニジマスや宮城県等で養殖されているギンザケ以外はほぼ天然物である。しかし、スズキ類では、有明海には西日本各地で養殖されている中国原産のタイリクスズキと形態が近似したスズキの1種が分布している。また、野外に逃げ出したタイリクスズキが西日本各地で定着していることも報告されている(Iseki et al. 2010)。よって、分析対象の魚類試料が天然物か養殖物か外形からは判別するのは難しいのが現状である。

近年、食物連鎖網の解析に炭素・窒素安定同位体比分析を用いた研究が急速に進展している。魚類養殖では大豆タンパクが飼料の一部として使用されているために、養殖魚の炭素安定同位体比が植物プランクトンを由来とする食物連鎖網上に位置する天然魚よりも低くなると考えられる。そこで、PCBs分析に供した魚類試料の炭素・窒素安定同位体比を分析し、分析対象のスズキ類が天然物か養殖物かを判別した。

以上の分析で得られた分析結果を基に、各魚類の PCBs 全異性体毎の濃度分布インベントリを作成した。それらをカネクロール製剤中の各異性体の割合に関する既報と比較し、非意図的に生成された PCB 異性体を探索した。

4. 研究成果

サクラマスおよびサツキマスからは、PCBs の 209 種の全異性体中、約 160 種の異性体が検出された。総 PCBs 濃度はサツキマスがサクラマスよりも高濃度であり、それぞれ約 40 ng/g 湿重量および約 3~30 ng/g 湿重量であった。Hites et al. (2004)等と比較すると、サツキマスの総 PCBs 濃度は北アメリカの野生のサケ類に比べ高濃度であり、北ヨーロッパで養殖されている大西洋サケの濃度に近かった。

また、これらのマス類の PCBs 全異性体の濃度インベントリを作成した。同族体組成については、サクラマスは 5、6 塩素化物の割合が 4 塩素化物よりも高い地域が多く、特に、5 塩素化物の#101、6 塩素化物の#153等の異性体の濃度が高かった。サツキマスは 4 塩素化物が最も優占し、“#52, 69”等の異性体の濃度が高かった。4 塩素化物に次いで、5、6 塩素化物の割合が高い値を示した。

今回分析を行った西日本のスズキ類からは、PCBs の 209 種の全異性体中、約 130~160 種の異性体が検出された。総 PCBs 濃度の最高値は兵庫県瀬戸内海側で採集されたスズキの 80 ng/g 湿重量、最低値は愛媛県南部で養殖されたタイリクスズキの 1 ng/g 湿重量、平均値は約 14 ng/g 湿重量であった。

PCBs の同族体組成に関しては、ほとんどの試料で 5~7 塩素化物が優占し、総 PCBs 濃度の 8 割以上を占めたが、愛媛県で養殖さ

れたタイリクスズキでは低塩素化 PCBs の割合が比較的高かった。異性体レベルでは、日本で生産された PCBs 製剤であるカネクロールシリーズ製品中の主要な異性体である #153 が、ほぼ全試料で最も高い割合(7~17%)で検出されたが、瀬戸内海から採集したスズキ等では、#99 も 4~7%と比較的高い割合で検出された。

なお、炭素・窒素安定同位体比分析の結果、タイリクスズキ以外のスズキ類は、養殖由来ではない天然物であると推察された。

日本近海のサクラマスやスズキ等の魚類中の各 PCB 異性体の割合をカネクロール製剤中の各異性体の割合に関する既報(Kim et al. 2004)と比較した結果、4 塩素化物の“#52, 69”と 5 塩素化物の#99 が、総 PCBs 濃度に対する割合がカネクロール製剤中の存在割合より高く、非意図的に生成された PCB 異性体である可能性が考えられた。

本研究による PCBs 全異性体 209 種の超微量分析では、分離性能に優れた HT8-PCB カラムを使用してきたが、幾つかの PCB 異性体の SIM クロマトグラムのピークが重複し、分離することができなかった。4 塩素化物の“#52, 69”もその一つである。従って、“#52, 69”が#52 あるいは#69 のいずれか、あるいは両方の異性体であるのかを明らかにする必要がある。

そこで、分離性能の改善を目指して、Deans スイッチを装備した質量分析計および電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ(GC/MS/ECD)を用い、スズキ中の“#52, 69”に関する詳細な分析を行った。第 1 カラムとして HT8-PCB カラムを装着したガスクロマトグラフにより PCBs 成分の分離を行った後、Deans スイッチにより“#52, 69”のピーク部分をカットし、極性の異なる第 2 カラムへ導入し、両異性体を分離分析した。その結果、“#52, 69”は全て#52 であった。

以上のように、従来よりも高精度で重複した PCB 異性体の SIM ピークを分離することができる分析法を開発することができた。今回、開発した方法は、SIM クロマトグラフ上でピークが重複した他の PCB 異性体の分離分析にも応用可能であると考えられる。

瀬戸内海のスズキ等で比較的高い濃度で検出された#99 は、カネクロール製剤では KC400 に高い割合で含まれているが、スズキよりも低い 1.7%である(Kim et al. 2004)。

#99 (2, 2', 4, 4', 5-)の分子構造は、#153 (2, 2', 4, 4', 5, 5'-)とビフェニール基の 2-, 4-, 5-等の 5 カ所に塩素が存在することが共通している。Kim et al. (2004)によると、#153 はカネクロール製剤中の最も主要な PCB 異性体の一つであり、今回分析したスズキ中では最もその割合が高い異性体である。しかし、#153 の 5'-位の塩素が脱離すると#99 となるため、魚類等の生体内で脱塩素化により#153 から#99 が生成し、魚体内に蓄積している可能性が考

えられる。また、Matsuo et al. (2009)は、#99は伊勢湾奥部の沿岸域生態系において食物連鎖を介した有意な濃度上昇がおこることを報告している。このようなことより、#99は非意図的に生成された異性体ではない可能性が高いと推察された。

マレーシア沿岸の各地から採集された魚類試料からは約120~160のPCB異性体が出された。総PCBs濃度は6 ng/g湿重量以下であった。

PCBsの同族体組成に関しては、ほとんどの試料で5~7塩素化物が優占し、総PCBs濃度の約6割以上を占めた。日本近海の魚類試料と同様に、大部分の試料では6塩素化物の#153が最も濃度が高い異性体であったが、マラッカ海峡から採集されたバラマンディでは、2塩素化物の#11が最も優占した異性体であった。

#11は、近年、北米大陸の五大湖周辺等で水、大気等から高濃度に検出されている非意図的に生成されたPCBsの異性体である。顔料工場の排水中から検出されているほか、近年、アジアでは中国の黄色顔料からの検出も報告されている(Shang et al. 2014)。

マラッカ海峡のバラマンディから#11が高い割合で検出されたことから、マラッカ海峡あるいは隣接する海域(地域)に#11の汚染源が存在することが示唆された。

引用文献

- Carubelli G, Fanelli R, Mariani G, Nichetti S, Crosa G, Calamari D, Fattore E (2007) *Chemosphere* 68: 1630-1635.
- Fraser B (2010) *Environ Sci Technol* 44: 2753-2754.
- Hites RA, Foran JA, Carpenter DO, Hamilton MC, Knuth BA, Schwager SJ (2004) *Science* 303: 226-229.
- Iseki T, Mizuno K, Ohta T, Nakayama K, Tanaka M (2010) *Ichthyol Res* 57: 245-253.
- 環境省 (2009) 日本周辺海域における海洋汚染の現状。主として海洋環境モニタリング調査結果(1998~2007年度)を踏まえて、環境省、東京。
- Kim KS, Hirai Y, Kato M, Urano K, Masunaga S (2004) *Chemosphere* 55: 539-553.
- Matsuo H, Kawano M, Omori K, Nakajima K, Takeuchi I (2009) *Mar Pollut Bull* 58: 1615-1623.
- 中西準子・小倉 勇 (2008) 詳細リスク評価書シリーズ16. コプラナーPCB. 丸善、東京。
- Shang H, Li Y, Wang T, Wang P, Zhang H, Zhang Q, Jiang G (2014) *Chemosphere* 98: 44-50.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Matsumoto R, Tu NPC, Haruta S, Kawano M, Takeuchi I (2014) Polychlorinated biphenyl (PCB) concentrations and congener

composition in masu salmon from Japan: a study of all 209 PCB congeners by high-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (HRGC/HRMS). *Mar Pollut Bull*, 査読有, <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.04.021>

〔学会発表〕(計3件)

Matsumoto R, Haruta S, Kawano M, Takeuchi I (2013) All 209 PCB congener analysis by HRGC/HRMS on Japanese seabass and related species collected from western Japan with special reference to dioxin-like PCB congeners. DIOXIN 2013. The 33rd International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants. Daegu, Korea, 27th, Aug, 2013.

Takeuchi I, Saga S, Tu NPC, Haruta S, Kawano M, Matsumoto R (2013) Health risk assessment of dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) in masu salmon and blackfin seabass based on all 209 PCB congener analysis by HRGC/HRMS. The 7th International Conference on Marine Pollution and Ecotoxicology, Hong Kong, China, 20th, June, 2013.

松本玲子・嵯峨俊太郎・Nguyen Phuc Cam Tu・河野公栄・竹内一郎 (2011) 日本近海におけるマス類のPCBs209異性体濃度、特にダイオキシン様PCBs(dl-PCBs)について。環境ホルモン学会第14回研究発表会、東京都、2011年12月1日。

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹内一郎 (TAKEUCHI, Ichiro)

愛媛大学・農学部・教授

研究者番号：30212020

(2) 研究分担者

河野公栄 (KAWANO, Masahide)

愛媛大学・農学部・教授

研究者番号：50116927

(3) 連携研究者

()

研究者番号：