

# GC/MS/MS による魚類中のポリ塩化ビフェニルの分析

小西友彦・内山賢二・畑野和広

福岡市保健環境研究所保健科学部門

## Analysis of PCBs in Fish by Gas Chromatography with Tandem Mass Spectrometry

Tomohiko KONISHI, Kenji UCHIYAMA and Kazuhiro HATANO

Health Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

### 要約

福岡市内を流通する魚類中のポリ塩化ビフェニル(PCBs)について、GC/MS/MS を用いた分析法を検討した。試料にクリーンアップスパイクとして5種類の<sup>13</sup>C-PCBs(2,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl (#118), 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl (#153), 2,3,3',4,4',5-Hexachlorobiphenyl (#156), 2,2',3,3',4,4',5-Heptachlorobiphenyl(#170), 2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl(#180))をそれぞれ5 ng 添加し、アルカリ分解後、ヘキサンで抽出し、市販のシリカゲルカートリッジを用いて精製を行った。測定は3～8塩化物を対象とし、内部標準法により定量を行った。この方法を用い、魚類5検体を分析したときのクリーンアップスパイクの回収率は78.0～101.7%で、定量限界は化合物ごとに0.01 ppbであり、定量に支障を与えるようなきょう雑ピークはほとんど見られなかった。また、分析対象とした全ての検体から0.0025～0.015 ppmのPCBsを検出したが、暫定的規制値を超過するものはなかった。

**Key Words** : ガスクロマトグラフ/タンデム質量分析装置 GC/MS/MS,  
魚類 fish, ポリ塩化ビフェニル PCBs

### 1 はじめに

ポリ塩化ビフェニル(PCBs)は Schmidt らが 1881 年に初めて合成したものであり、我が国では 1954 年に輸入および生産が始まった。高脂溶性、不燃性、高絶縁性などの優れた物性により 1960～70 年代を中心に絶縁油や熱媒体などとして多方面に用いられていたが、このような広範な使用とその化学的安定性により広く環境を汚染することとなり、欧米で 1966 年頃から環境汚染物質として関心が高まり、我が国でも 1972 年に生産が中止となり、法律<sup>1), 2)</sup>がその使用、廃棄を厳しく規制している。

我が国で PCBs が大きく取り上げられるきっかけとなったのは、1968 年福岡県、長崎県を中心とした西日本一帯で発生したカネミ油症事件である。これは米ぬか油中に脱臭工程の熱媒体として用いられた PCBs 等が混入

したことが原因で起こった大規模食中毒事件であった。

このような背景から、食品衛生法でも食品に残留する PCBs について暫定的規制値が定められ<sup>3)</sup>、全国でモニタリング調査が行われている<sup>4~7)</sup>。その結果、食品中に残留する PCBs は減少傾向にあるとの報告もある<sup>6), 7)</sup>が、PCBs は環境残留性が高く、食物連鎖の高位に位置する魚類などでは依然として高濃度汚染が続いており<sup>5)</sup>、食品中の PCBs の継続的な監視が必要である。

食品中の PCBs の分析法には、試料を熱アルカリ分解後、充填式カラムで精製を行い、ガスクロマトグラフ/質量分析装置(GC/MS)などを用いる方法<sup>8)</sup>があるが、操作が煩雑であることや大量の有機溶媒を使用することなど問題がある。さらに、定量に支障を与えるきょう雑ピークの影響を受けやすく、ピークの判定が困難な場合が多い。

当所では、油症患者の血液中の PCBs の分析に市販の

シリカゲルカートリッジを精製に使用し、GC/MS より選択性があり相対感度が高く得られるガスクロマトグラフ/タンデム質量分析装置(GC/MS/MS)を測定に用いた方法<sup>9)</sup>を開発した。そこで、魚類についてもこの方法が適用できるかを検討した。

## 2 実験方法

### 2.1 試料

福岡市内を流通していた魚類5検体(カンパチ1検体, タイ3検体, ヒラメ1検体)を使用した。

### 2.2 試薬等

標準物質 : Accu Standard 社製  
 2,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl( #118) ,  
 2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl( #138) ,  
 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl( #153) ,  
 2,3,3',4,4',5-Hexachlorobiphenyl( #156) ,  
 2,2',3,3',4,4',5-Heptachlorobiphenyl( #170) ,  
 2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl( #180) ,  
 2,2',3,4',5,5',6-Heptachlorobiphenyl( #187) および  
 Cambridge Isotope Laboratories 社製 PCB Window  
 Defining Mixture(3 塩化物 ; 2,4,6-Trichlorobiphenyl( #30) ,  
 3,4,4'-Trichlorobiphenyl( #37) , 4 塩化物 ;  
 2,2',6,6'-Tetrachlorobiphenyl( #54) ,  
 3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl( #77) , 5 塩化物 ;  
 2,2',4,6,6'-Pentachlorobiphenyl( #104) ,  
 3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl( #126) , 6 塩化物 ;  
 2,2',4,4',6,6'-Hexachlorobiphenyl( #155) ,  
 3,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl( #169) , 7 塩化物 ;  
 2,2',3,4',5,6,6'-Heptachlorobiphenyl( #188) ,  
 2,3,3',4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl( #189) , 8 塩化物 ;  
 2,2',3,3',5,5',6,6'-Octachlorobiphenyl( #202) ,  
 2,2',3,3',5,5',6,6'-Octachlorobiphenyl( #194) , 各 2.5 µg/mL  
 を使用した。

内部標準物質 (<sup>13</sup>C-PCBs) : Cambridge Isotope  
 Laboratories 社製 2,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl( #118) ,  
 2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl( #138) ,  
 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl( #153) ,  
 2,3,3',4,4',5-Hexachlorobiphenyl( #156) ,  
 2,2',3,3',4,4',5-Heptachlorobiphenyl( #170) および  
 2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl( #180) , いずれも 40  
 µg/mL n-ノナン溶液を使用した。

標準溶液 : 標準物質を n-ノナンで溶解後混合し、さ  
 らに内部標準物質を混合して n-ノナンで適宜希釈した。

クリーンアップスパイク : 5 種類の内部標準物質  
 (#118, #153, #156, #170, #180)を混合して n-ノナン  
 で希釈し 100 ng/mL に調製した。

シリンジスパイク : 内部標準物質( #138)を n-ノナン  
 で希釈し 5 ng/mL に調製した。

蒸留水 : 高速液体クロマトグラフ用を使用した。

水酸化カリウム : 特級を使用した。

シリカゲルカートリッジ : ジーエルサイエンス (株)  
 製 InertSep SI(500 mg/6 mL)をあらかじめ n-ヘキササン 10  
 mL でコンディショニングして使用した。

その他の試薬 : PCB 試験用を使用した。

### 2.3 装置

ガスクロマトグラフ : Varian 社製 CP-3800 を使用し  
 た。

質量分析装置 : Varian 社製 1200 を使用した。

### 2.4 測定条件

既報<sup>9)</sup>により次のとおり行った。

#### 2.4.1 ガスクロマトグラフ

注入口温度 : 220 °C

カラム : J&W (株) 製 DB-5MS+DG(0.25 mm i.d.×  
 30 m, 0.25 µm)

カラム温度 : 130 °C(2 min) - 20 °C/min - 200 °C  
 (0 min) - 3 °C/min - 260 °C(10 min)

カラム流量 : 1.2 mL/min

注入量 : 2 µL (スプリットレス)

#### 2.4.2 質量分析装置

イオン化電流 : 150 µA

イオン化モード (電圧) : EI (70 eV)

イオン源温度 : 225 °C

インターフェース温度 : 250 °C

コリジョンエネルギー : -30 eV

モニターイオン : 表 1 に示すとおり、塩化物ごとに定  
 量イオン、確認イオンを 1 イオンずつ設定した。

表 1 各塩化物のモニターイオン

PCBs	モニターイオン(m/z)		
	定量イオン	確認イオン	<sup>13</sup> C-PCBs
3 塩化ビフェニル	258 → 186	258 → 188	
4 塩化ビフェニル	292 → 220	292 → 222	
5 塩化ビフェニル	326 → 256	326 → 254	338 → 268
6 塩化ビフェニル	360 → 290	360 → 288	372 → 302
7 塩化ビフェニル	396 → 324	396 → 326	408 → 336
8 塩化ビフェニル	430 → 358	430 → 360	

## 2.5 試験溶液の調製

### 2.5.1 抽出

試料 10 g にクリーンアップスパイク 50  $\mu$ L を添加し、蒸留水およびエタノール各 50 mL を加えた。これに 2 mol/L となるよう水酸化カリウムを加えた後、時々かくはんしながら、固形物が認められなくなるまで約 1 週間室温に置いた。これに蒸留水 50 mL を加え、さらに n-ヘキサン 100 mL を加えて 10 分間振とうし、静置後 n-ヘキサン層を採った。水層にさらに n-ヘキサン 50 mL を加え、同様に抽出した。n-ヘキサン層を合わせ、蒸留水 50 mL で 5 回洗浄した。無水硫酸ナトリウムで脱水後、エバポレーターを用いて約 1 mL まで濃縮して抽出液とした。

### 2.5.2 精製

シリカゲルカートリッジカラムに抽出液を負荷し、n-ヘキサン 6 mL で溶出し、溶出液をスピッツ管に採り、窒素吹き付けで約 1 mL まで濃縮した。これにシリンジスパイク 100  $\mu$ L を添加し、窒素吹き付けで約 100  $\mu$ L まで濃縮し、試験溶液とした。

## 2.6 ピークの同定及び定量

PCB Window Defining Mixture に含まれる各塩化物の異性体の保持時間を参考とし、その範囲内に溶出するピークのうち、定量イオン及び確認イオンの強度比が標準物質と概ね  $\pm 20\%$  以内で一致したものを定量対象とした。定量は表 2 のとおり標準物質と内部標準物質との相対感度係数 (RRF) を求めて内部標準法で行った。PCBs 異性体のうち #118, #138, #153, #156, #170, #180 および #187 については当該標準物質の RRF を用いて、その他の異性体については各塩化物の溶出ウィンドウで最初に溶出する標準物質と最後に溶出する標準物質の RRF の平均を用いて定量した。

表 2 定量に用いた標準物質と内部標準物質

PCBs	標準物質	内部標準物質
3 塩化ビフェニル 全異性体	#30,#37	#118
4 塩化ビフェニル 全異性体	#54,#77	#118
5 塩化ビフェニル #118	#118	#118
5 塩化ビフェニル その他	#104,#126	#118
6 塩化ビフェニル #138	#138	#153,#156
6 塩化ビフェニル #153	#153	#153
6 塩化ビフェニル #156	#156	#156
6 塩化ビフェニル その他	#155,#169	#153,#156
7 塩化ビフェニル #170	#170	#170
7 塩化ビフェニル #180	#180	#180
7 塩化ビフェニル #187	#187	#170,#180
7 塩化ビフェニル その他	#188,#189	#170,#180
8 塩化ビフェニル 全異性体	#202,#194	#170,#180

## 3 実験結果および考察

### 3.1 市販シリカゲルカートリッジカラムの検討

食品中の PCBs の分析法では、精製に充填式カラムを使用する方法<sup>8)</sup>がある。しかし、この方法はガラスカラムの洗浄、シリカゲルの活性化、充填及び洗浄にかなりの時間と大量の有機溶媒を必要とし、操作が煩雑である。また、作業スペースを広く要するため、多くの検体を分析する場合、一度に処理することができない。そこで、当所では市販のシリカゲルカートリッジカラムを血中 PCBs の精製に用いた分析法を開発した<sup>9)</sup>。一方、シリカゲルやフロリジルなどを用いた精製を行う場合、充填剤の活性度の違いや試料中の成分などによる影響により、溶出する成分の画分が異なることが考えられる<sup>10)</sup>。今回は、活性化済みのシリカゲルを使用したシリカゲルカートリッジカラムを用いて検討した。

シリカゲルカートリッジカラムに各標準物質 10 ng を負荷し、n-ヘキサン 10 mL で溶出した。溶出液は 2 mL ごとに分画し回収率を求めた。各標準物質の回収率を表 3 に示した。その結果、92.2 ~ 107.8%と概ね良好に回収された。すべての標準物質が 6 mL で完全に溶出したため、n-ヘキサン 6 mL でシリカゲルカートリッジカラムから溶出させることとした。

### 3.2 魚類の分析

本法を用いて、魚類 5 検体を測定したときのクリーンアップスパイクの回収率を表 4 に示した。回収率は 78.0 ~ 101.7%と良好な結果が得られ、定量限界は各化合物とも 0.01 ppb であった。

また、表 5 に示したとおり、分析対象とした全ての検体から PCBs を 0.0025 ~ 0.015 ppm の範囲で検出したが、魚介類に対しての PCBs の暫定的残留規制値 (遠洋沖合魚介類で 0.5 ppm, 内海内湾魚介類で 3 ppm) を超過するものはなかった。

表 4 クリーンアップスパイクの回収率

<sup>13</sup> C-PCBs	回収率 (%)				
	カンパチ	タイ	タイ	タイ	ヒラメ
5 塩化ビフェニル #118	95.9	98.0	98.8	96.1	99.3
6 塩化ビフェニル #153	96.3	96.2	94.2	92.8	90.0
6 塩化ビフェニル #156	87.4	93.6	93.4	90.0	85.9
7 塩化ビフェニル #170	86.3	90.2	86.3	95.9	82.9
7 塩化ビフェニル #180	91.9	101.7	96.2	78.0	95.2

表3 市販シリカゲルカートリッジカラムに各異性体を負荷したときの回収率

PCBs		回収率(%)					total
		0-2 mL	2-4 mL	4-6 mL	6-8 mL	8-10 mL	
3 塩化ビフェニル	#30	61.1	46.7	0.0	0.0	0.0	107.8
	#37	32.5	74.4	0.4	0.0	0.0	107.3
4 塩化ビフェニル	#54	3.5	100.6	0.0	0.0	0.0	104.1
	#77	23.9	77.3	0.0	0.0	0.0	101.2
5 塩化ビフェニル	#104	70.6	30.4	0.0	0.0	0.0	101.0
	#118	80.3	20.6	0.0	0.0	0.0	100.9
	#126	49.2	47.1	0.0	0.0	0.0	96.3
6 塩化ビフェニル	#138	101.2	4.1	0.0	0.0	0.0	105.3
	#153	95.1	6.8	0.0	0.0	0.0	101.9
	#155	75.5	25.1	0.0	0.0	0.0	100.6
	#156	78.4	17.6	0.9	0.0	0.0	96.9
	#169	74.2	24.2	0.0	0.0	0.0	98.4
7 塩化ビフェニル	#170	95.6	3.1	0.0	0.0	0.0	98.7
	#180	89.2	3.0	0.0	0.0	0.0	92.2
	#187	90.0	7.0	0.0	0.0	0.0	97.0
	#188	73.9	27.7	0.0	0.0	0.0	101.6
	#189	94.7	6.4	0.0	0.0	0.0	101.1
8 塩化ビフェニル	#194	88.8	3.8	0.0	0.0	0.0	92.6
	#202	97.2	5.0	0.0	0.0	0.0	102.2

表5 魚類中の PCBs の分析結果

PCBs		濃度(ppb)				
		カンパチ	タイ	タイ	タイ	ヒラメ
3 塩化ビフェニル	全異性体	0.46	0.39	0.38	0.20	0.06
4 塩化ビフェニル	全異性体	1.94	1.80	1.63	0.97	0.23
5 塩化ビフェニル	#118	0.83	0.83	0.69	0.49	0.12
	その他	2.76	2.89	2.43	1.67	0.40
6 塩化ビフェニル	#138	1.25	1.32	1.09	0.84	0.21
	#153	2.19	2.47	2.13	1.55	0.48
	#156	0.09	0.10	0.08	0.06	0.02
	その他	1.87	2.15	1.68	1.31	0.44
7 塩化ビフェニル	#170	0.15	0.20	0.13	0.12	0.03
	#180	0.59	0.74	0.57	0.44	0.14
	#187	0.51	0.65	0.45	0.42	0.16
	その他	0.56	0.69	0.49	0.43	0.14
8 塩化ビフェニル	全異性体	0.20	0.28	0.19	0.18	0.05
総 PCBs		13.40	14.51	11.94	8.68	2.48

本法を用いてカンパチを測定したときのクロマトグラムの例を図1に示した。定量に支障を与えるようなきょう雑ピークはほとんど見られなかった。

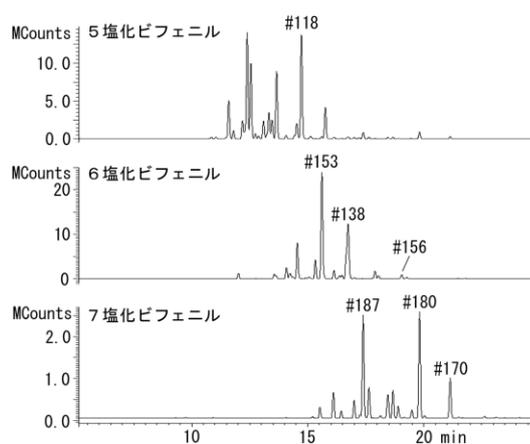


図1 魚類（カンパチ）中のポリ塩化ビフェニルの SRM クロマトグラムの例

本法はカラム精製が簡便で、測定結果のピークの判定も容易であるため、魚類中の PCBs の分析法として有用であると考えられる。

## 文献

- 1) 法律第 117 号：化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律，昭和 48 年 10 月 16 日公布
- 2) 法律第 137 号：廃棄物の処理及び清掃に関する法律，昭和 45 年 12 月 25 日公布
- 3) 厚生省通知環食第 442 号：食品中に残留する PCB の規制について，昭和 47 年 8 月 24 日
- 4) 原口浩一，他：市販鯨肉製品における重金属及び有機塩素系化合物の汚染実態調査，食品衛生学雑誌，41(4)，287～296，2000
- 5) 安村浩平，他：自動化システムを用いた魚類中の PCBs の分析，食品衛生学雑誌，42(1)，1～6，2001
- 6) 阿久津和彦，他：GC/MS による食品中のポリ塩化ビフェニルの異性体分析，食品衛生学雑誌，46(3)，99～108，2005
- 7) 松本比佐志，他：大阪府下の市販食肉および食肉加工品中の PCB および有機塩素系農薬の残留実態，食品衛生学雑誌，47(3)，127～135，2006
- 8) 日本薬学会編：衛生試験法・注解，486～496，金原出版(株)，2005
- 9) 久保記久子，赤木浩一，畑野和広：GC/MS/MS による血液中のポリ塩化ビフェニルの分析，福岡市保健環境研究所報，31，95～98，2006
- 10) 小林進，他：環境における農薬分析（I）有機塩素系農薬の分析，埼玉県公害センター研究報告，16，1～26，1989