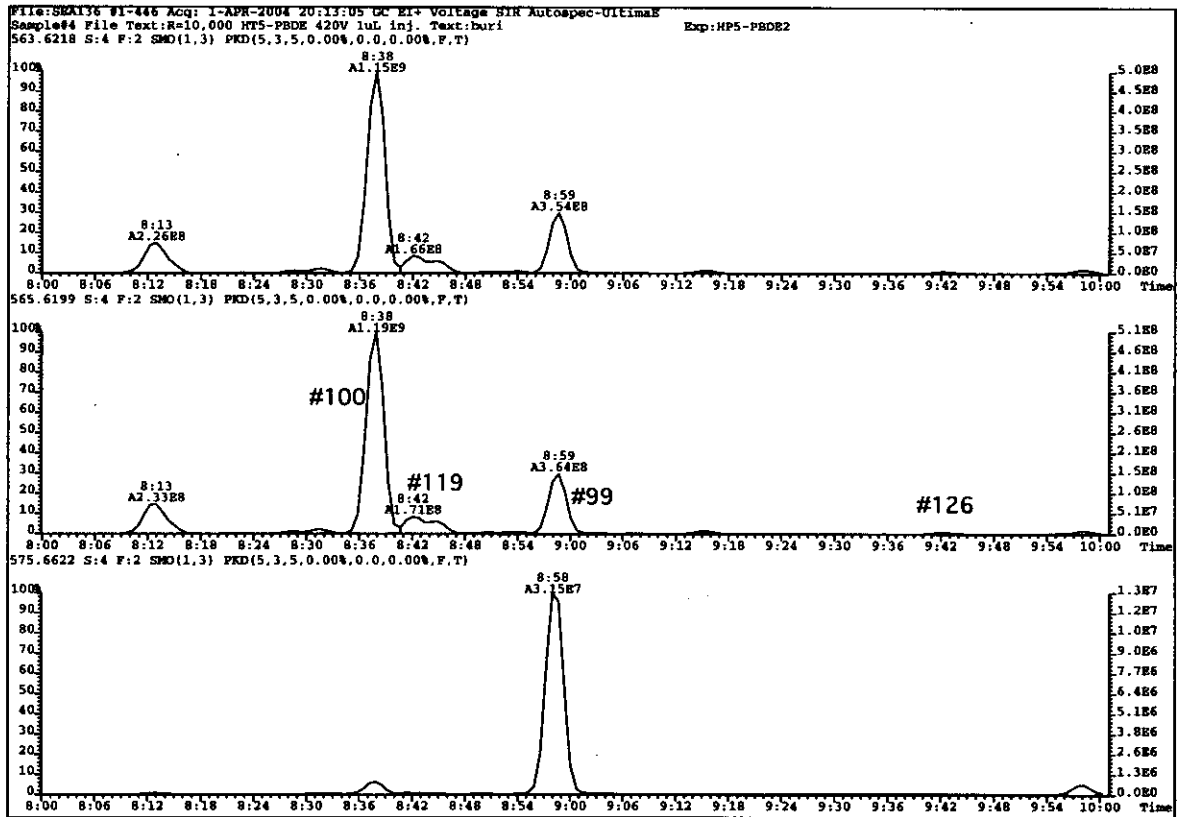


(a)



(b)

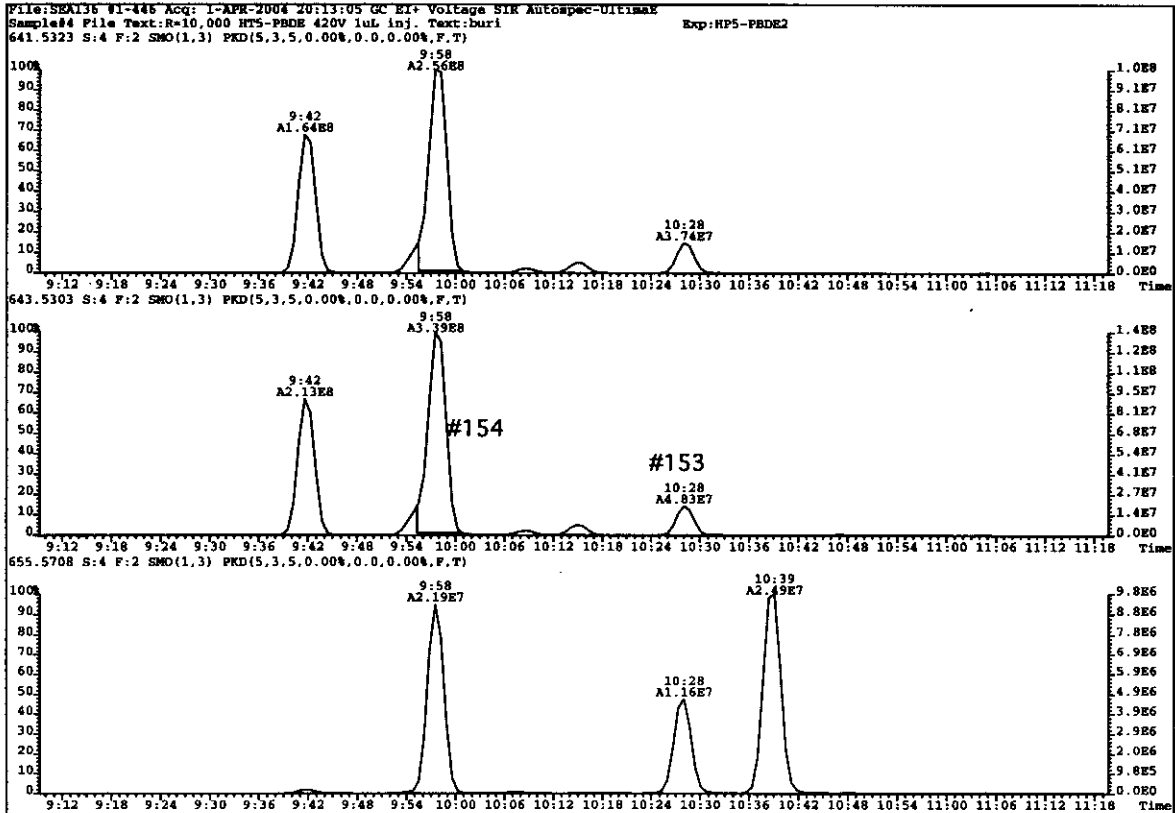
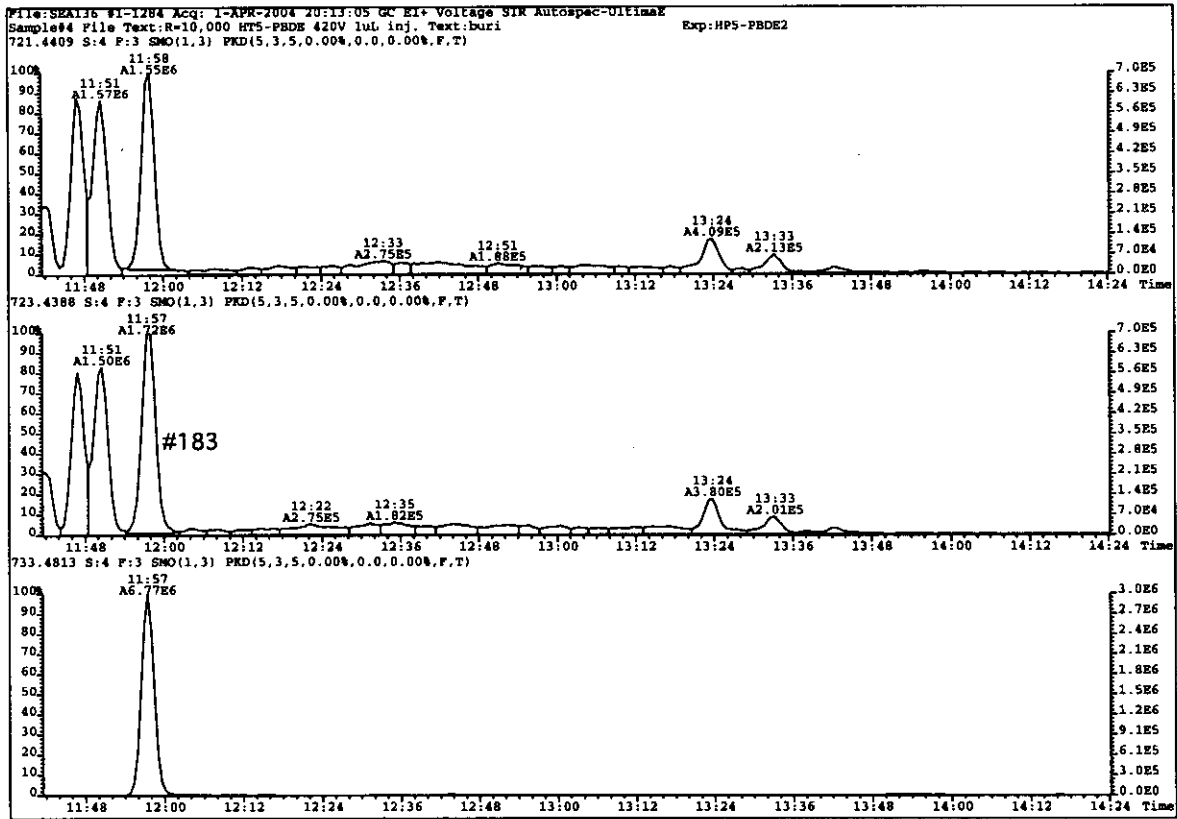


図3-2 生鮮魚(ブリ)におけるPBDEマスキロマトグラム

(a) PeBDE (b) HxBDE

(a)



(b)

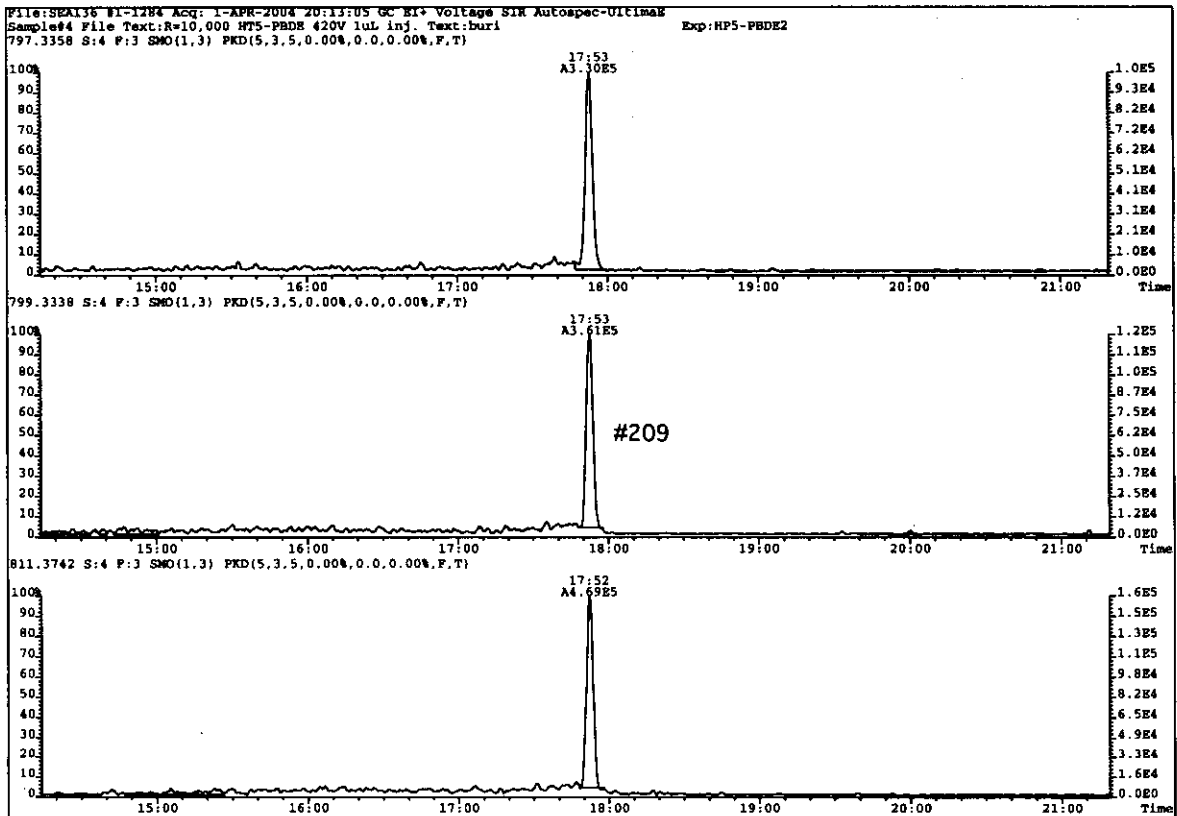
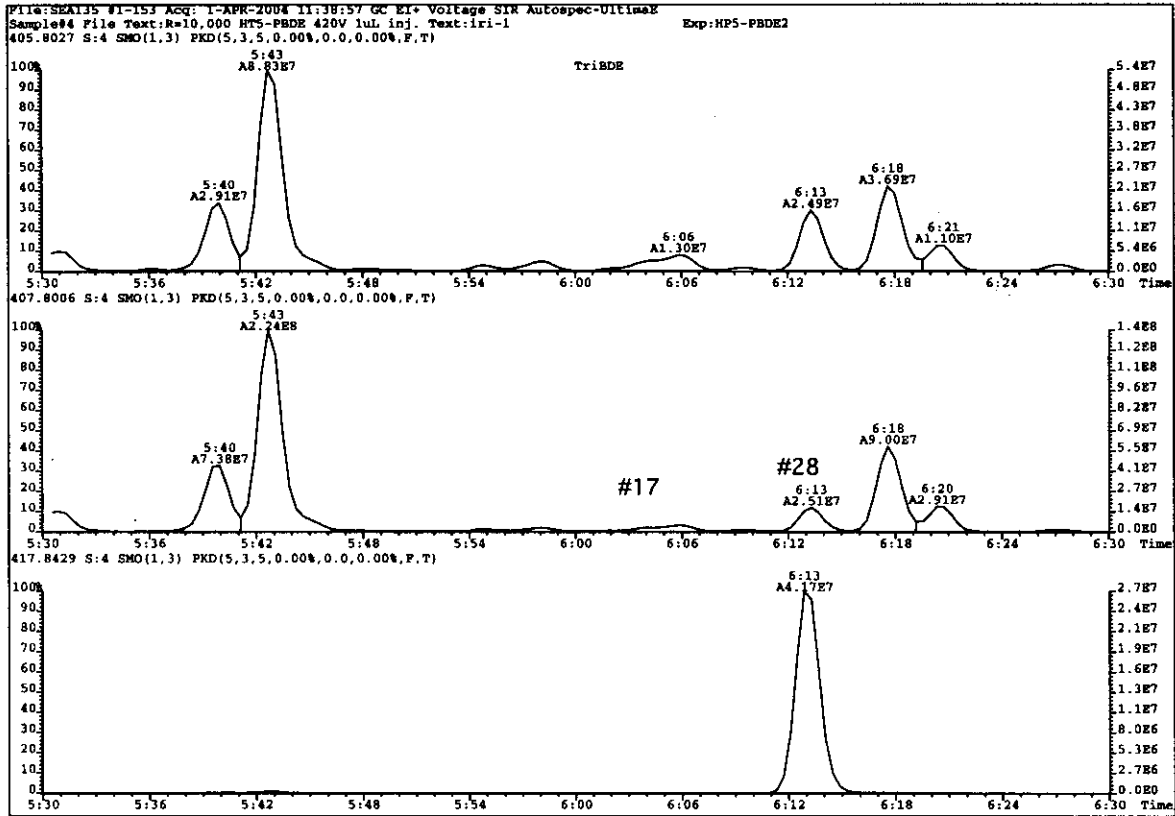


図3-3 生鮮魚（ブリ）におけるPBDEマスクロマトグラム

(a) HpBDE (b) DeBDE

(a)



(b)

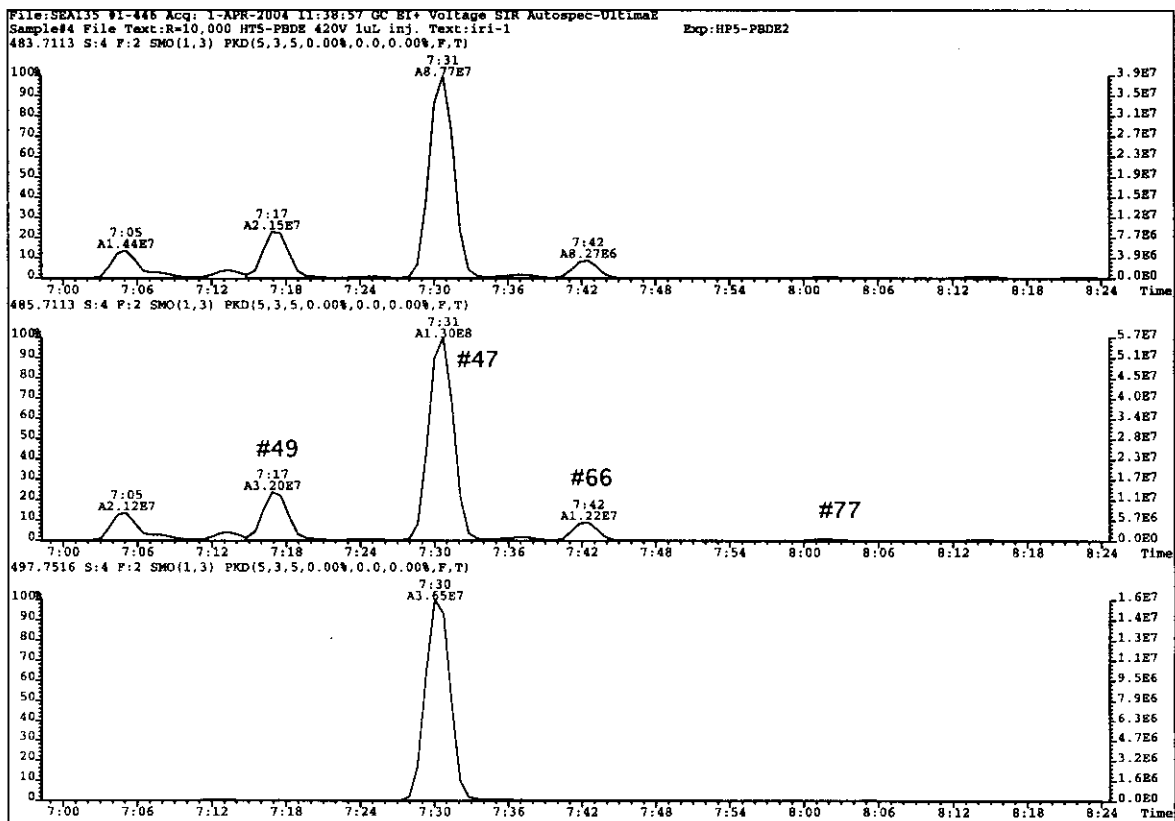
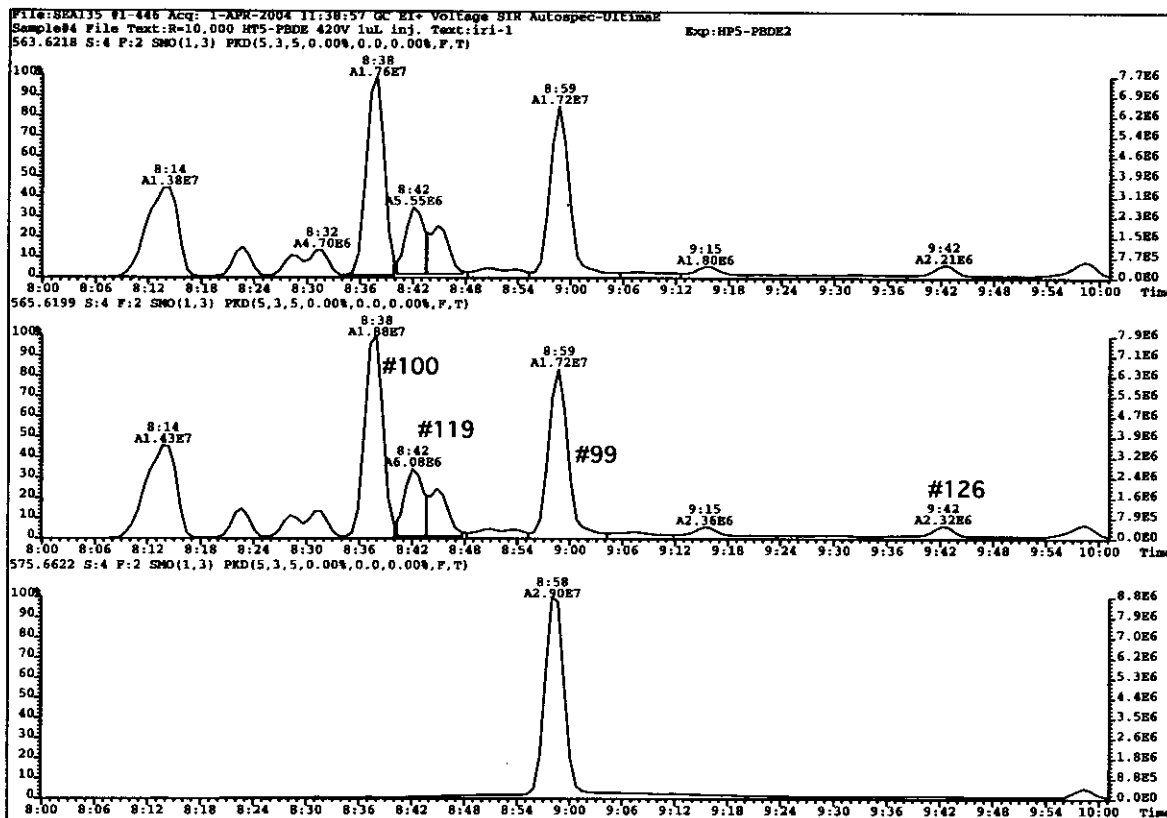


図5-1 加工食品（ニボシ）におけるPBDEマスキロマトグラム

(a) TriBDE (b) TeBDE

(a)



(b)

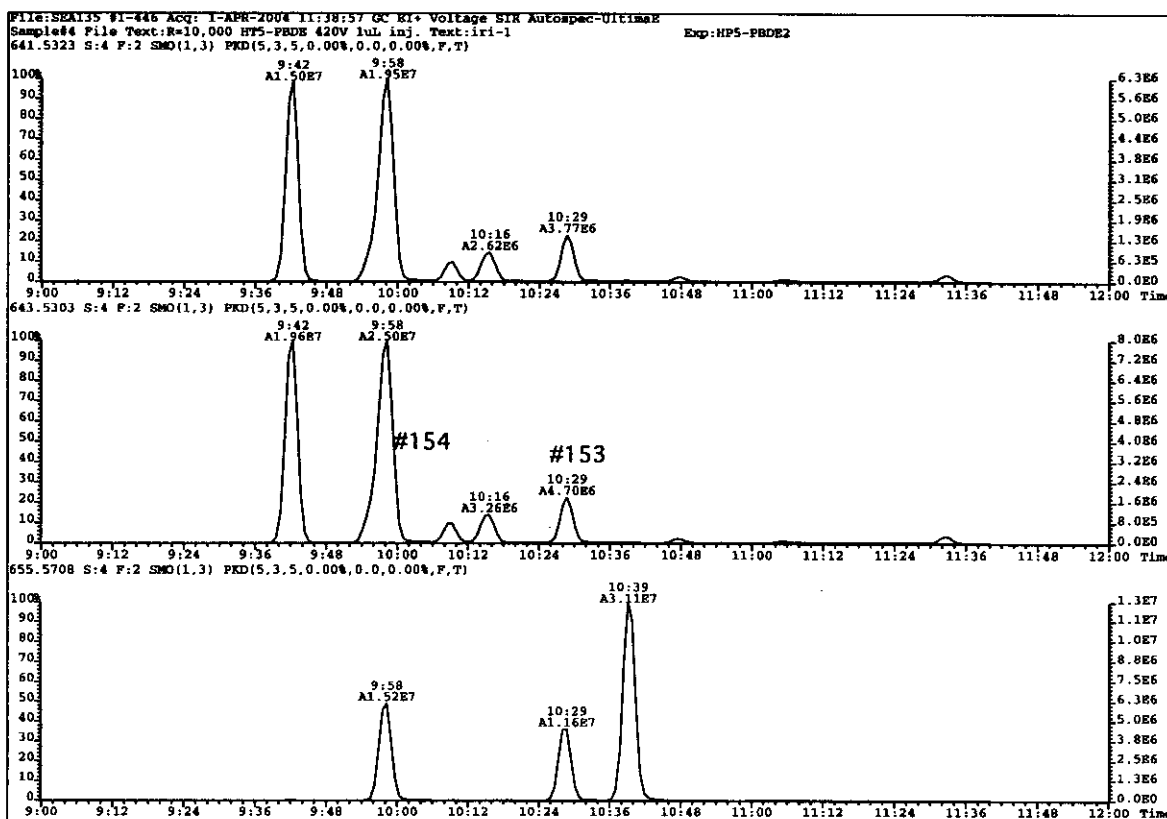
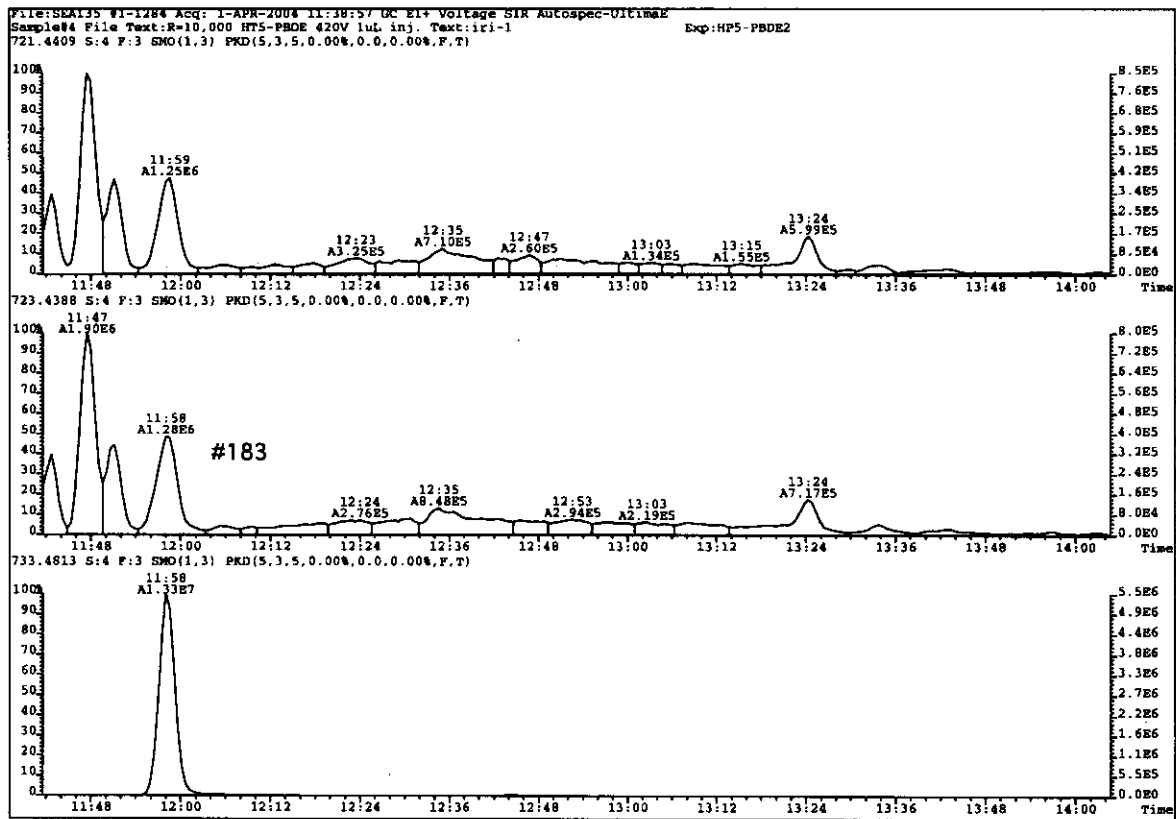


図5-2 加工食品（ニボシ）におけるPBDEマスキロマトグラム

(a)



(b)

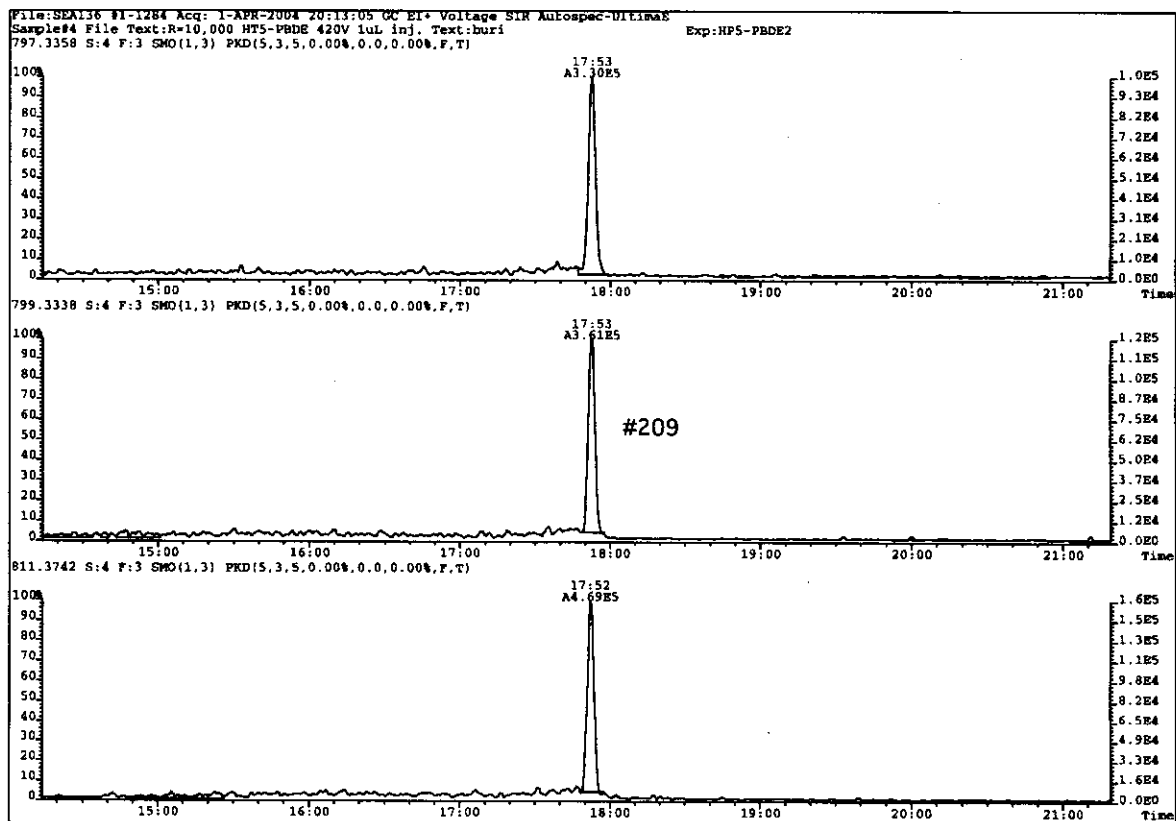
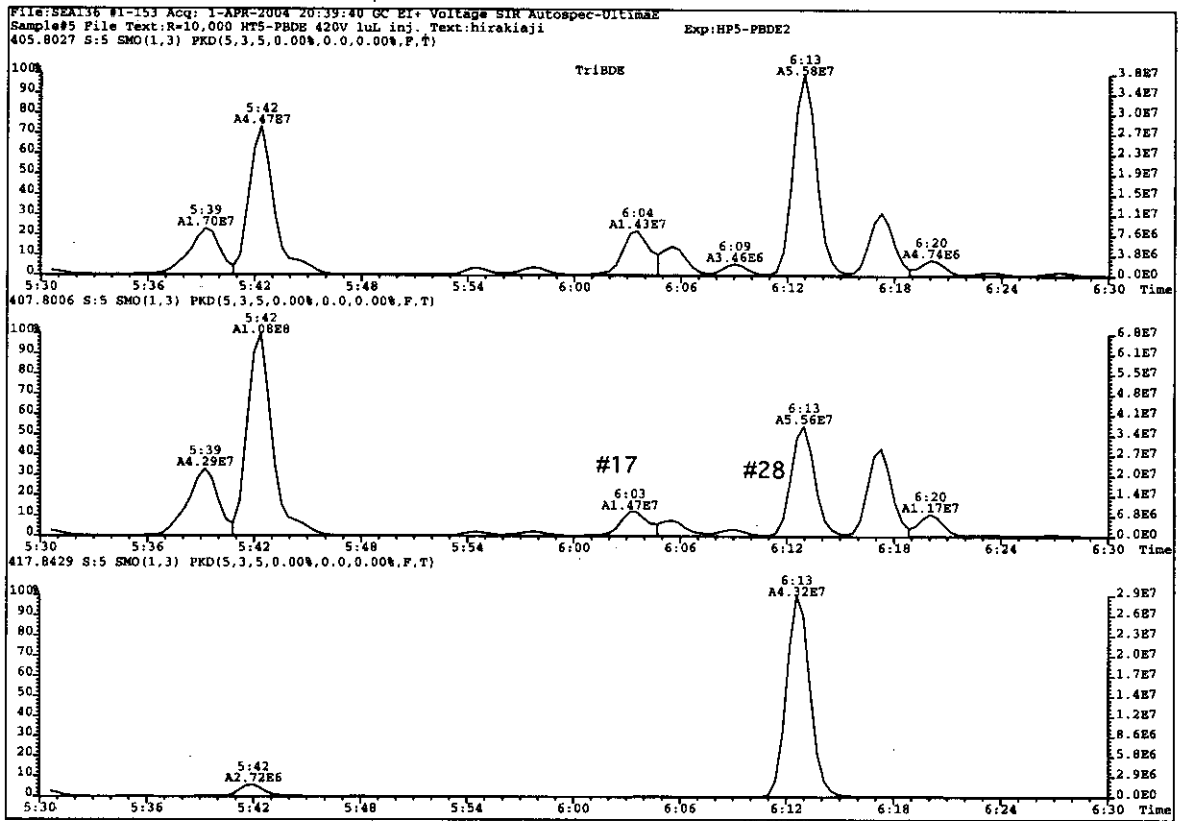


図5-3 加工食品（ニボシ）におけるPBDEマスクロマトグラム

(a)



(b)

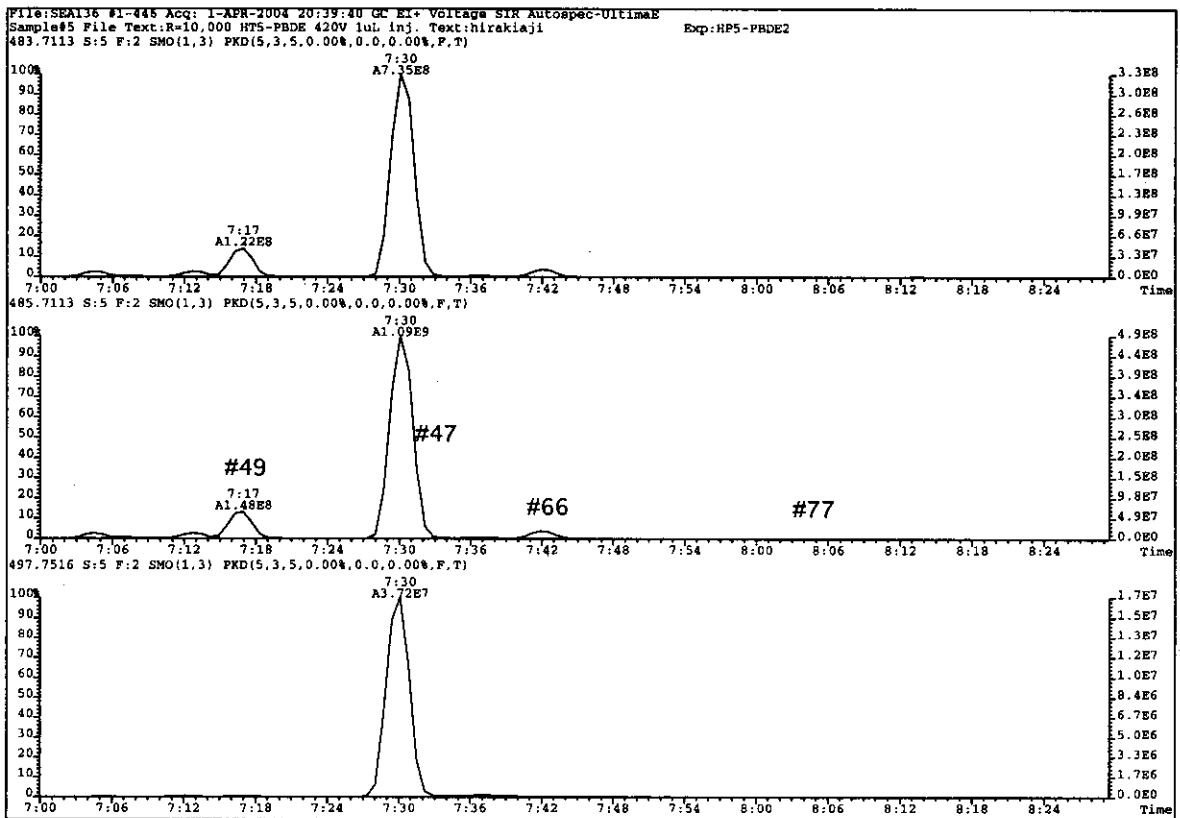
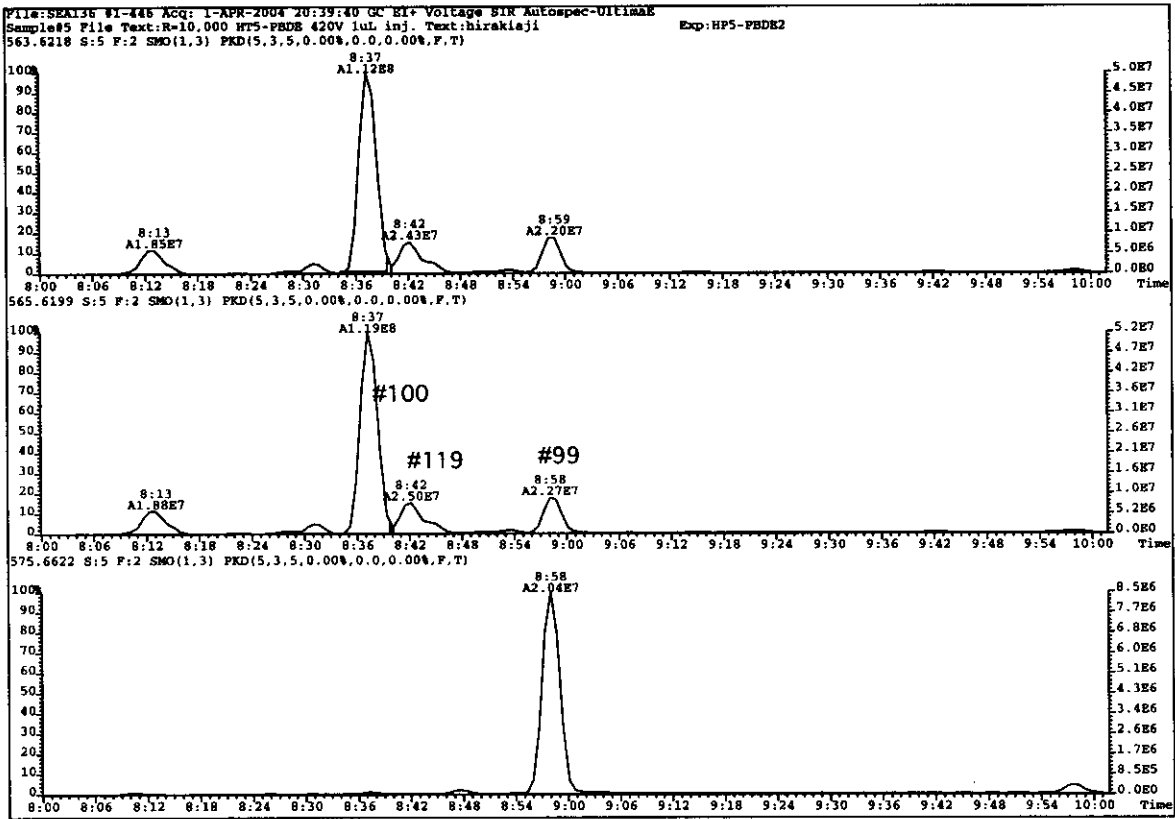


図6-1 加工食品（開きアジ）におけるPBDEマスキロマトグラム

(a) TriBDE (b) TeBDE

(a)



(b)

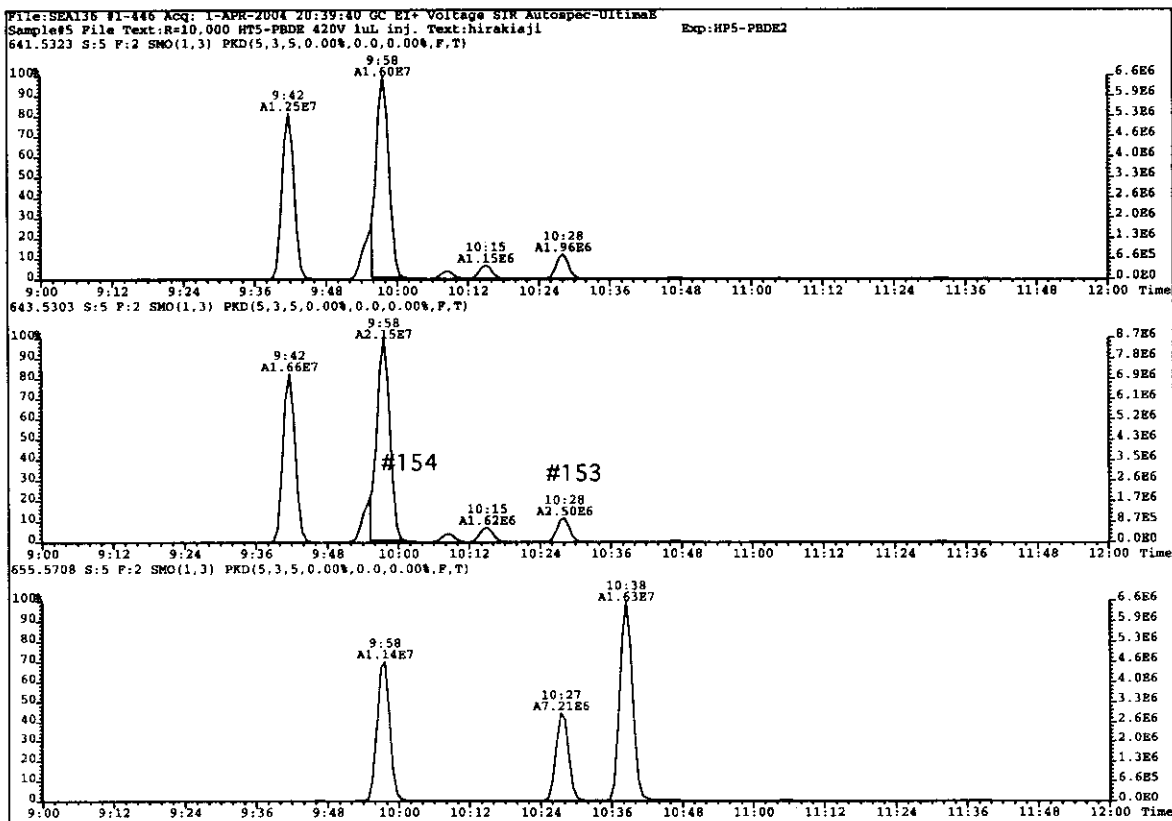
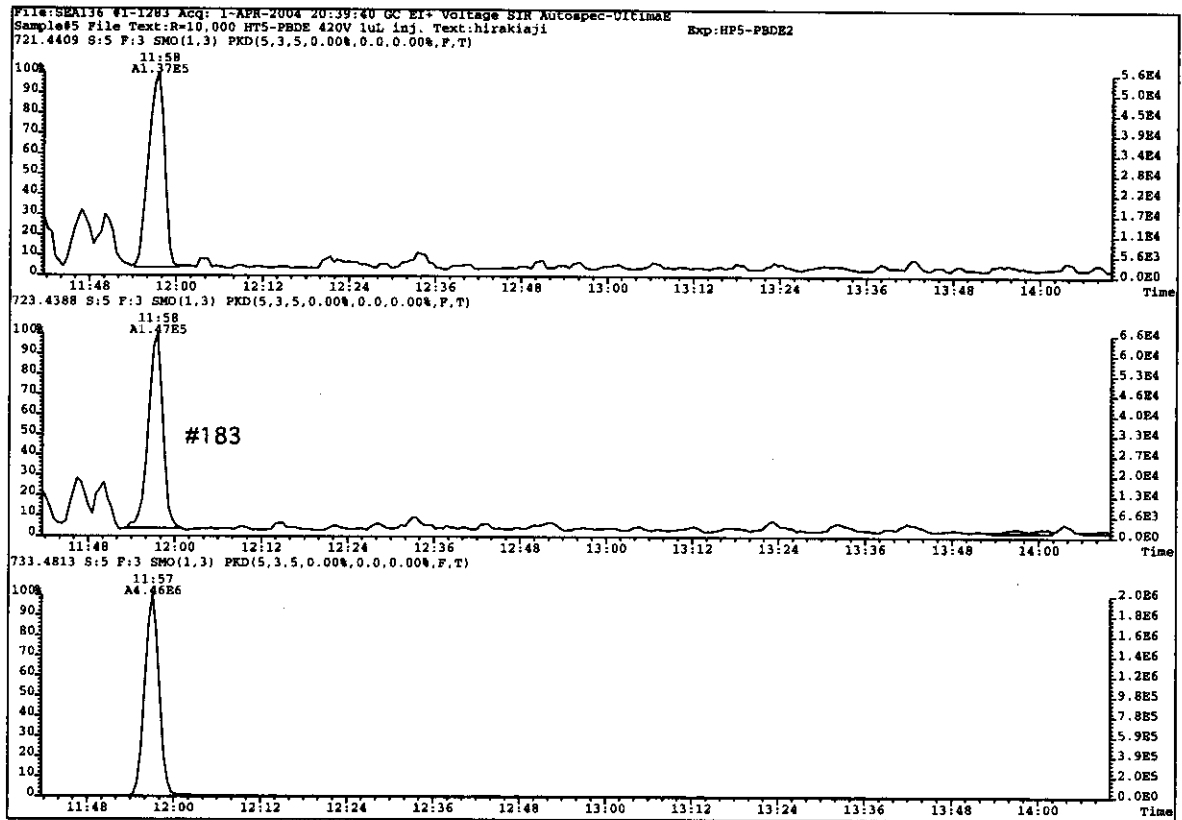


図6-2 加工食品（開きアジ）におけるPBDEマスキロマトグラム

(a) PeBDE (b) HxBDE

(a)



(b)

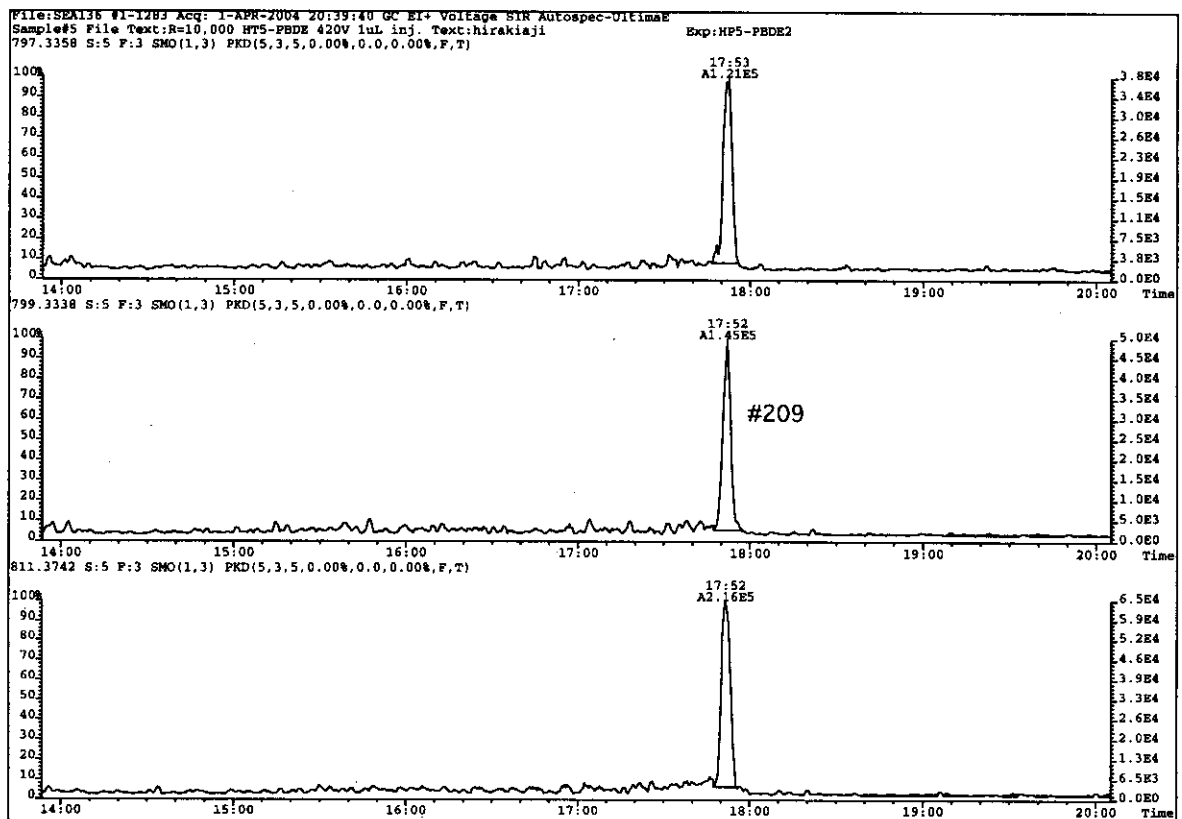
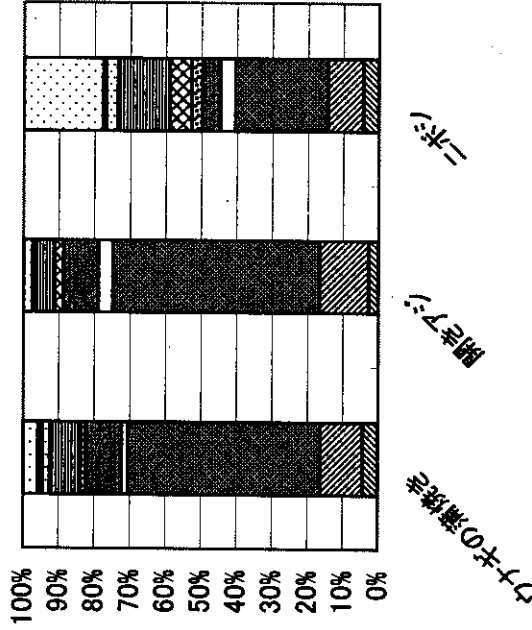


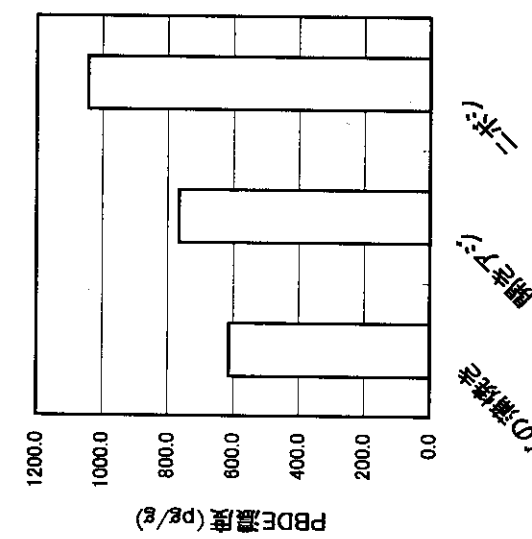
図6-3 加工食品（開きアジ）におけるPBDEマスキロマトグラム

(a) HpBDE (b) DeBDE

- DecaBDE(#209)
- 2,2',3,4,4',5',6'-HpBDE (#183)
- ▨ 2,2',3,4,4',5'-HxBDE(#138)
- 2,2',4,4',5,5'-HxBDE(#153)
- ▨ 2,2',4,4',5,6'-HxBDE(#154)
- ▨ 3,3',4,4',5'-PeBDE(#126)
- 2,2',3,4,4'-PeBDE(#85)
- ▨ 2,2',4,4',5'-PeBDE(#99)
- ▨ 2,3',4,4',6'-PeBDE(#119)
- ▨ 2,2',4,4',6'-PeBDE(#100)
- ▨ 3,3',4,4'-TeBDE(#77)
- 2,3',4,4'-TeBDE(#66)
- ▨ 2,2',4,4'-TeBDE(#47)
- 2,3',4',6'-TeBDE(#71)
- ▨ 2,2',4,5'-TeBDE(#49)
- ▨ 2,.,4,4'-TriBDE(#28)
- ▨ 2,2',4'-TriBDE(#17)



(%)



PBDE濃度 (pg/g)

加工食品におけるPBDE異性体分布

加工食品におけるPBDE濃度

図7 加工食品(ウナギの蒲焼き、開きアジ、ニボシ)におけるPBDE濃度とその異性体分布

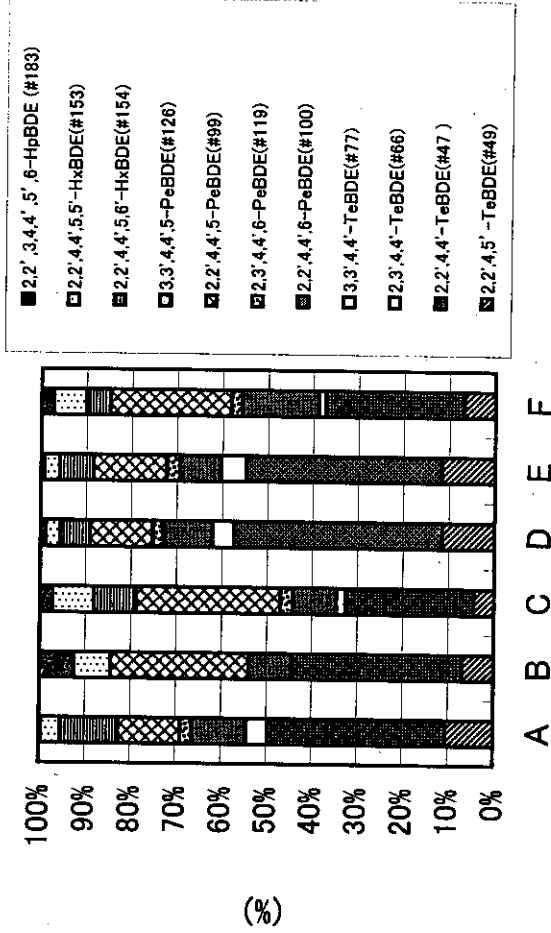
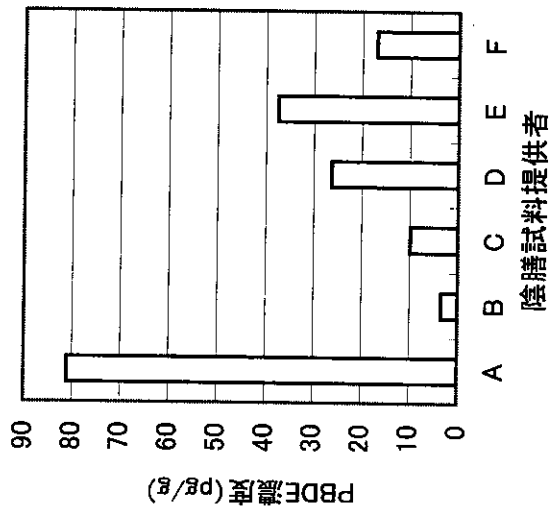


図8 陰膳試料におけるPBDE濃度と異性体分布

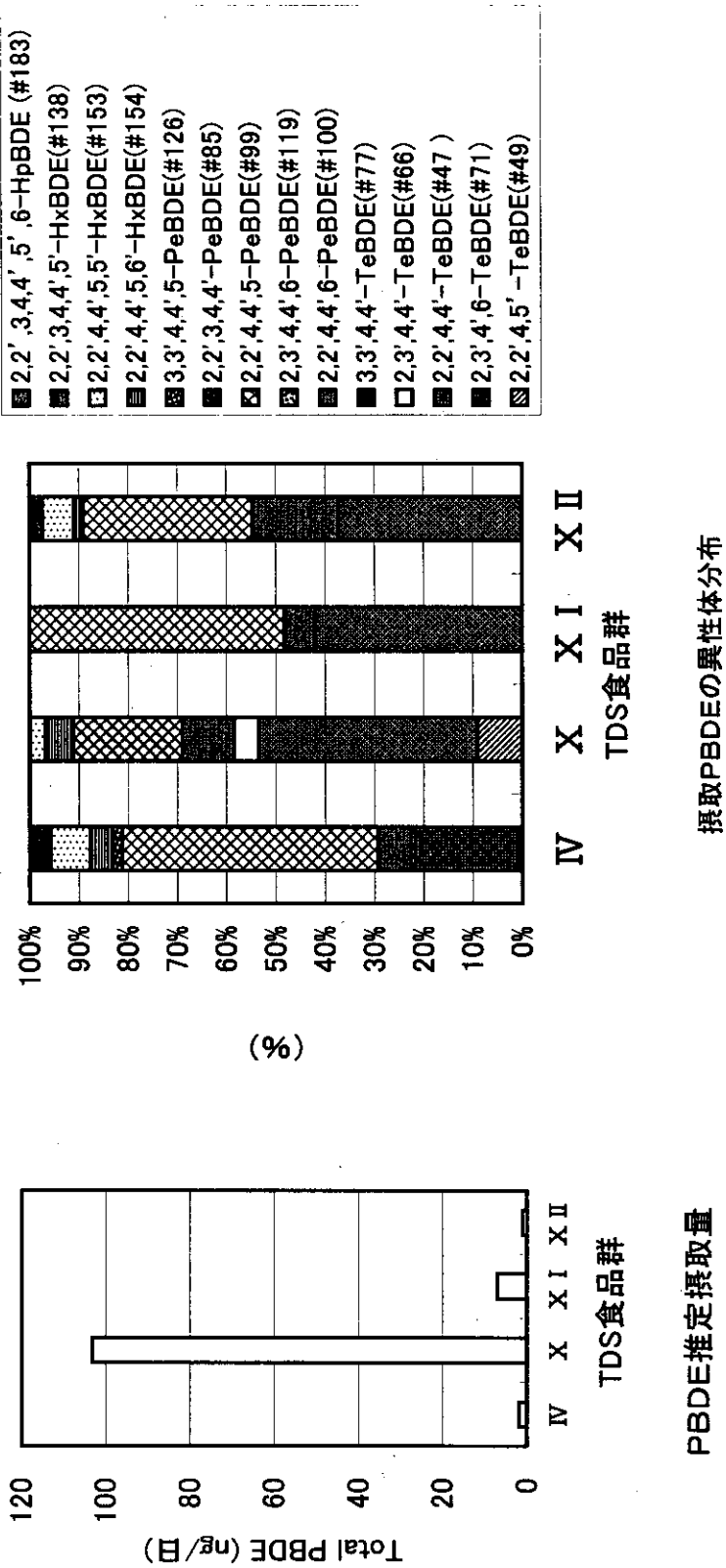


図9 トータルダイエイト試料(第4,10,11,12)におけるPBDE濃度とその異性体分布

分担研究報告書

臭素化ダイオキシン及びその関連化合物質の
分析法の開発に関する研究

分担研究者 芦塚由紀

(福岡県保健環境研究所)

厚生労働科学研究費補助金（食品安全確保研究事業）

分担研究報告書

食品中臭素化ダイオキシン及びその関連化合物の汚染実態の解明に関する研究

分担研究課題 臭素化ダイオキシン及びその関連化合物の分析法の開発

分担研究者 芦塚由紀 福岡県保健環境研究所

研究要旨 臭素化ダイオキシン類及びその汚染源と考えられる臭素系難燃剤の臭素化ジフェニルエーテルの食品における汚染状況や、ヒトへの影響はほとんど明らかになっておらず、早急に調査及び研究を進める必要がある。我々はこれまで分析法の検討を行ってきた4～6臭素化ダイオキシン類(PBDD/Fs)、4～7臭素化ジフェニルエーテル(PBDEs)に加え、より環境中の汚染濃度が高いモノ臭素ポリ塩素化ダイオキシン類(MoBPCDD/Fs)や難燃剤として現在も使用されているデカプロモジフェニルエーテル(DeBDE)の高感度な分析法を開発することを目的とし、(1)実試料を用いたPBDD/Fs、MoBPCDD/Fs、PBDEs、DeBDEの添加回収試験(2)臭素化ダイオキシン類の高分解能GC/MS測定における高感度化に関する検討、(3)臭素化ジフェニルエーテル類のGC/MS測定における大量注入法の導入についての検討を行った。その結果、GC/MSにおいてPBDD/Fsの異性体と同時に、MoBPCDD/Fsの異性体が測定可能であり、良好な分離及び感度が得られた。また実試料を用いたn=5の添加回収試験ではPBDD/Fs、MoBPCDD/Fs、PBDEsの回収率は平均50%～81%であり、良好であった。臭素化ダイオキシン類の高分解能GC/MS測定における高感度化に関する検討で不活性化処理法の異なる3種類のカラムを検討した結果、1つのカラムにおいてピーク強度の安定性、S/N比が優れていることが示された。臭素化ジフェニルエーテル類のGC/MS測定における大量注入法の導入についての検討は、ピーク分離は良好だったが通常注入以上の感度が得られず、今後さらに改良が必要であると考えられた。

分担研究者

芦塚由紀

(福岡県保健環境研究所 主任技師)

研究協力者

堀 就英

(福岡県保健環境研究所 研究員)

飛石和大

(福岡県保健環境研究所 主任技師)

飯田隆雄

(福岡県保健環境研究所 保健科学部長)

国内の調査において、大気や土壌、底質などからの検出が報告されている¹⁾。臭素化ダイオキシン類の検出量は塩素化ダイオキシン類に比べると低濃度であるが、脂肪組織²⁾や血液³⁾など人体試料からの検出が報告されているため、その主な汚染経路と考えられる食品中の濃度レベルについて調査を進めていく必要がある。また、環境中で臭素化ダイオキシン類以上の濃度レベルで検出されているモノ臭素ポリ塩素化ダイオキシン類や、関連化合物の臭素化ジフェニルエーテル類についても、同時に調査を行っていく必要があると思われる。特に臭素化ジフェニルエーテル類は、国内外で盛んに研究がされており、国内の魚介類から

A. 研究目的

臭素化ダイオキシン類は、臭素系難燃剤の合成過程や臭素系難燃剤を含むプラスチック等の燃焼によって生ずる物質であり

総濃度20~2000pg/g、野菜類30~130pg/gという濃度レベルで検出されている⁴⁾。臭素化ジフェニルエーテル類は燃焼によって臭素化ダイオキシン類を発生するだけでなく、化合物自体の毒性についても疑われているため早急に汚染実態を明らかにする必要がある。

我々は、これまで臭素化ダイオキシン類と臭素化ジフェニルエーテル類の異性体の中で、4~6臭素化ダイオキシン類、3~7臭素化ジフェニルエーテル類の高速溶媒抽出を用いた分析法、GC/MSにおける高感度化について検討を進めてきた。高感度化についての研究では、大量注入装置の一つであるSGE社製 Solvent Cut Large Volume(SCLV) Injection System⁵⁾を導入した測定を試みている(平成14年度分担研究報告書)。

今回は、7,8 臭素化ダイオキシン類、モノ臭素ポリ塩素化体、10 臭素化ジフェニルエーテルについても同時に分析を行うため、測定条件の検討及び実試料の添加回収試験を行い、分析法の検証を行った。また、高分解能 GC/MS における臭素化ダイオキシン類の感度及び精度の向上のため、活性化処理法の異なる 3 種類のカラムについて検討を行った。臭素化ジフェニルエーテル分析では昨年度に引き続き、GC/MS における

大量注入法の導入について検討した。

B. 研究方法

1. MoBPCDD/Fsの高分解能GC/MSにおける測定条件の検討

1-1 標準品

Cambridge Isotope laboratories 社(米国)製の $50 \pm 5 \mu\text{g/ml}$ ノナン溶液(表 2)を用いた。

1-2 使用機器

高分解能質量分析計(HRMS):

Micromass 社製 Autospec ULTIMA、

分解能:10000 以上,イオン源温度 270°C

高分解能ガスクロマトグラフ(HRGC):

Hewlett Packard 社製 HP6890

1-3 測定条件

カラム:J&W 社製 DB-5

0.25mmi. d. ×30m, 膜厚 0.1 μm

注入方法:スプリットレス

注入口温度:240°C

昇温条件:130°C ~20°C /min~240°C ~
5°C/min~320°C(7.5min)

1-4 実験方法

各 $50 \mu\text{g/ml}$ 標準溶液を混合し、 10ng/ml 混合標準溶液を作製した。 $1\mu\text{l}$ を注入し、測定条件の検討を行った。モニターイオンは表 4 に示す。

表 1. PBDD/Fs の標準物質

臭素化ダイオキシン類標準品 Cambridge Isotope laboratories 社(米国)製 ($5 \pm 0.5 \mu\text{g/mL}$ ノナン溶液)	
2,3,7,8-TeBDD	2,3,7,8-TeBDF
1,2,3,7,8-PeBDD	1,2,3,7,8-PeBDF
1,2,3,4,7,8-HxBDD	2,3,4,7,8-PeBDF
1,2,3,6,7,8-HxBDD	1,2,3,4,7,8-HxBDF
1,2,3,7,8,9-HxBDD	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeBDF
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TeBDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeBDF
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeBDD	¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeBDF

表 2. MoBPCDD/Fs の標準物質

臭素化ダイオキシン類標準品 Cambridge Isotope laboratories 社 (米国) 製 (50±5 μg/mL ノナン溶液)	
2-Br-3,7,8-TrCDD	¹³ C ₁₂ -1-Br-2,3,7,8-TeCDD
1-Br-2,3,7,8-TeCDD	
2-Br-3,6,7,8,9-PeCDD	
1-Br-2,3,6,7,8,9-HxCDD	
1-Br-2,3,4,6,7,8,9-HpCDD	
3-Br-2,7,8-TrCDF	
1-Br-2,3,7,8-TeCDF	

表 3. PBDEs の標準物質

Brominated Diphenyl Ether Calibration Solution (WELLINGTON LABORATORYIES 社製)	
Native PBDE	¹³ C ₁₂ -PBDE
4-BDE (3)	¹³ C ₁₂ -4-BDE (3L)
2,4-DiBDE (7)	¹³ C ₁₂ -4,4'- DiBDE (15 L)
4,4'- DiBDE (15)	¹³ C ₁₂ -2,4,4'- TriBDE (28 L)
2,2',4'- TriBDE (17)	¹³ C ₁₂ -2,2',4,4'- TeBDE (47 L)
2,4,4'- TriBDE (28)	¹³ C ₁₂ -2,2',4,4',5'- PeBDE (99 L)
2,2',4,4'- TeBDE (47)	¹³ C ₁₂ -2,2',4,4',5,5'- HxBDE (153 L)
2,2',4,5'- TeBDE (49)	¹³ C ₁₂ -2,2',4,4',5,6'- HxBDE (154 L)
2,3',4,4'- TeBDE (66)	¹³ C ₁₂ -2,2',3,4,4',5',6'- HpBDE (183 L)
2,3',4',6- TeBDE (71)	¹³ C ₁₂ -2,2',3,4,4',6'- HxBDE (139 L)
3,3',4,4'- TeBDE (77)	
2,2',3,4,4'- PeBDE (85)	
2,2',4,4',5- PeBDE (99)	
2,2',4,4',6- PeBDE (100)	
2,3',4,4',6- PeBDE (119)	
3,3',4,4',5- PeBDE (126)	
2,2',3,4,4',5'- HxBDE (138)	
2,2',4,4',5,5'- HxBDE (153)	
2,2',4,4',5,6'- HxBDE (154)	
2,2',3,4,4',5',6- HpBDE (183)	
DecaBDE (209)	

表 4. PBDD/Fs 及び MoBPCDD/Fs の設定質量数

Native-体	設定質量数		¹³ C ₁₂ -ラベル体	設定質量数
TeBDD	497.6924	499.6904	¹³ C ₁₂ -TeBDD	511.7307
PeBDD	577.6009	579.5989	¹³ C ₁₂ -PeBDD	589.6412
HxBDD	655.5114	657.5094	¹³ C ₁₂ -HxBDD	669.5496
TeBDF	481.6975	483.6955	¹³ C ₁₂ -TeBDF	495.7357
PeBDF	561.6060	563.6039	¹³ C ₁₂ -PeBDF	573.6462
HxBDF	639.5165	641.5145	—	—
HpBDF	719.5250	721.4229	—	—
OBDD	813.3304	815.3284	—	—
MoB-TrCDD	365.8436	367.8410	—	—
MoB-TeCDD	399.8045	401.8019	¹³ C ₁₂ -MoB-TeCDD	411.8448
MoB-PeCDD	433.7655	435.7628	—	—
MoB-HxCDD	467.7265	469.7237	—	—
MoB-HpCDD	503.6847	505.6819	—	—
MoB-TrCDF	349.8487	351.8460	—	—
MoB-TeCDF	383.8096	385.8070	—	—

表 5. PBDEs の設定質量数

Native-体	設定質量数		¹³ C ₁₂ -ラベル体	設定質量数
TriBDE	405.8028	407.8008	¹³ C ₁₂ -TriBDE	417.8430
TeBDE	483.7113	485.7113	¹³ C ₁₂ -TeBDE	497.7516
PeBDE	563.6218	565.6199	¹³ C ₁₂ -PeBDE	575.6622
HxBDE	641.5323	643.5303	¹³ C ₁₂ -HxBDE	655.5708
HpBDE	721.4409	723.4388	¹³ C ₁₂ -HpBDE	733.4813
DecaBDE	797.3358	799.3338	¹³ C ₁₂ -DecaBDE	811.3742

2. 実試料を用いた PBDD/Fs, MoBPCDD/Fs, PBDEs, DeBDD の添加回収試験

2-1. 標準品

1) PBDD/Fs

Cambridge Isotope laboratories 社 (米国) 製の 5±0.5 μg/ml ノナン溶液 (表 1) を用いた。

2) MoBPCDD/Fs

Cambridge Isotope laboratories 社 (米国) 製の 50±5 μg/ml ノナン溶液 (表 2) を用いた。

3) PBDEs (3 臭素化~7 臭素化)

Wellington Laboratories 社 (米国) 製

Brominated Diphenyl Ether Calibration Solution (表 3) を使用した。

4) DeBDD

Cambridge Isotope 社 (米国) 製、50 μg/ml ノナン溶液 (99%) を使用した。

2-2 試薬

ヘキサン：ダイオキシン類分析用

関東化学株式会社

ジクロロメタン：10 万倍濃縮検定品

関東化学株式会社

トルエン：10 万倍濃縮検定品

関東化学株式会社

硫酸：有害金属測定用

和光純薬工業株式会社

無水硫酸ナトリウム：残留農薬/PCB 試験用

関東化学株式会社

シリカゲル：Wako-gel S-1

和光純薬工業株式会社

フロリジル：カラムクロマトグラフィー用

関東化学株式会社

2-3 使用機器

高分解能質量分析計(HRMS)：

Micromass 社製 Autospec ULTIMA、

分解能：10000 以上、イオン源温度 270℃

高分解能ガスクロマトグラフ(HRGC)：

Hewlett Packard 社製 HP6890

2-4 測定条件

1) PBDD/Fs, MoBPCDD/Fs

カラム：J&W 社製 DB-5

0.25mmi. d. ×30m, 膜厚 0.1 μm

注入方法：スプリットレス

注入口温度：240℃

昇温条件：130℃ ~20℃ /min~240℃ ~
5℃/min~320℃ (7.5min)

2) PBDEs, DeBDE

カラム：Agilent 社製 HP-5MS

0.25mmi. d. ×15m, 膜厚 0.1 μm

注入方法：スプリットレス

注入口温度：240℃

昇温条件：120℃(2min)~(20℃/min)~
200℃~(10℃/min)~300℃(1min)
~(20℃/min)~310℃ (5min)

2-5 高速溶媒抽出の機器及び条件

機器：DIONEX 社製 ASE-300

抽出セル：99ml

捕集バイアル：200ml 容量

オープン温度：100℃

抽出圧力：1500psi

設定温圧保持時間：10分

フラッシュ容積：セル容量の 40%

ガスパーズ時間：120秒

静置サイクル数：2回

2-6 実験方法

煮干し(市販品)20g を秤量し、クリーンアップスパイクとして、¹³C-PBDD/Fs(各 500pg)、¹³C-MoBPCDD/Fs(各 100pg) ¹³C-PBDEs(各 1000pg)、¹³C-DeBDE(2000pg)を添加した後、n=5 で添加回収試験を行った。高速溶媒抽出用の 99ml セルに試料及び珪藻土を詰め、ヘキサンで高速溶媒抽出を行った後、抽出液を 100ml 以下になるまで、減圧濃縮した。テフロン製の遠心管に移し、硫酸 20ml で 3 回処理した後、水 20ml で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、5ml まで減圧濃縮し、シリカゲル(130℃で 3 時間活性化) 2g、無水硫酸ナトリウム 2g を充填したカラムに負荷し、10%ジクロロメタン/ヘキサン 150ml で溶出させた。これを減圧濃縮し、フロリジルカラム(130℃で 3 時間活性化フロリジル 5g、無水硫酸ナトリウム 2g を充填)に負荷させた。第一画分としてヘキサン 150ml で PBDEs を、第二画分として 60%ジクロロメタン/ヘキサン 200ml で PBDD/Fs、MoBPCDD/Fs を溶出させた。第一画分(PBDEs)は 2ml にメスアップし、そのうちの 1ml を DMSO 分配により精製した。シリンジスパイクとして、¹³C-2,2',3,4,4',6-HxBDE を 1ng 加え、最終検液 25μl とし、HRGC/HRMS で測定を行った。一方、第二画分の PBDD/Fs は 5ml まで濃縮後、無水硫酸ナトリウム 2g、活性炭 1g(トルエンで 3 回洗浄したナカライテスク社製活性炭を無水硫酸ナトリウムに対して 0.1%混合したもの)、無水硫酸ナトリウム 2g を充填したカラムに負荷し、10%ジクロロメタン/ヘキサン 50ml で洗浄した後、トルエン 200ml で溶出した。減圧濃縮し、シリンジスパイクとして ¹³C-OCDD(125pg)を加え、最終検液 25μl とし、HRGC/HRMS で測定を行った。モニターイオンは表 4、表 5 に示す。

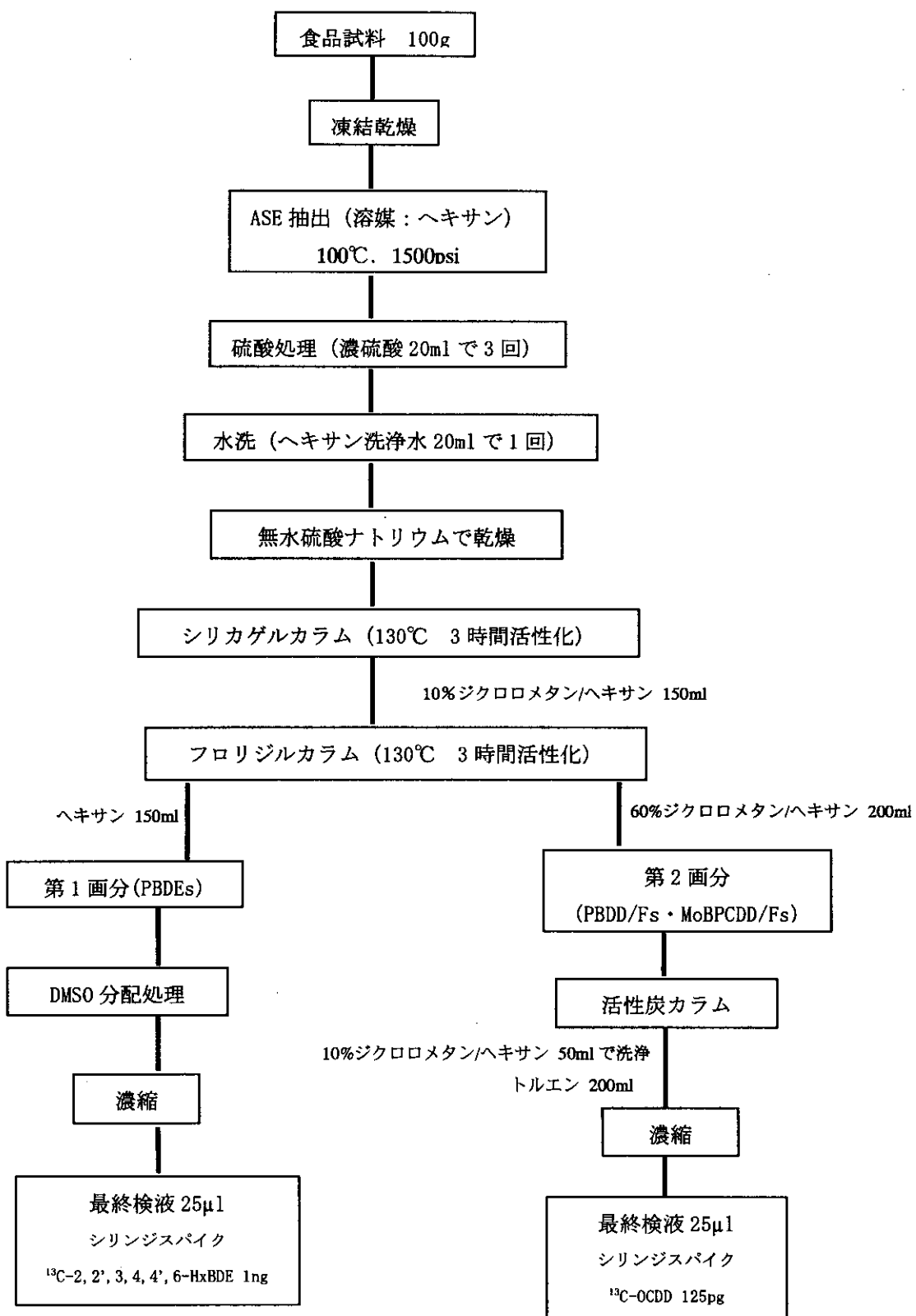


図 1 PBDEs 及び PBDD/ Fs の分析フローチャート

3. 臭素化ダイオキシン類の GC/MS 測定における高感度化の検討

3-1 標準品

Cambridge Isotope laboratories 社 (米国) 製の $5 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ ノナン溶液 (表 1) を用い、 20ng/ml 混合標準溶液を作製し使用した。

3-2 使用機器

高分解能質量分析計 (HRMS) :

Micromass 社製 Autospec ULTIMA、
分解能 : 10000 以上, イオン源温度 270°C

高分解能ガスクロマトグラフ (HRGC) :

Hewlett Packard 社製 HP6890

3-3 測定条件

注入方法 : スプリットレス

注入口温度 : 240°C

昇温条件 : $130^\circ\text{C} \sim 20^\circ\text{C}/\text{min} \sim 240^\circ\text{C} \sim 5^\circ\text{C}/\text{min} \sim 320^\circ\text{C}$ (7.5min)

3-4 実験方法

SGE社のBPX-5相当品 ($0.25\text{mmi. d.} \times 30\text{m}$, 膜厚 $0.25 \mu\text{m}$) で、それぞれ不活性化処理方法の異なる3種類のGC/MS用キャピラリーカラム (以後カラムA~Cと記す) について、臭素化ダイオキシン類測定に対するカラムの感度、安定性を調べるために、PBDD/Fs 混合標準溶液 20ng/ml の20~30回連続注入を行い、ピーク強度の変化やS/N比の違いを比較検討した。

4. 臭素化ジフェニルエーテル分析における大量注入法の検討

SGE社のSolvent Cut Large Volume (SCLV) Injection System を四重極 GC/MS の GC 注入口に設置し、標準物質の分離及び検出感度について検討した。

4-1 標準品

Wellington Laboratories 社 (米国) 製 Brominated Diphenyl Ether Calibration Solution (表 2) を使用した。

4-2 使用機器

Agilent 社製 HP6890/5973MSD

4-3 測定条件

1) 通常注入法

カラム : Agilent 社製 HP-5MS

$0.25\text{mmi. d.} \times 15\text{m}$, 膜厚 $0.1 \mu\text{m}$

注入口温度 : 240°C

昇温条件 : 120°C (2min) \sim ($20^\circ\text{C}/\text{min}$) \sim 200°C \sim ($10^\circ\text{C}/\text{min}$) \sim 300°C (1min) \sim ($20^\circ\text{C}/\text{min}$) \sim 310°C (5min)

2) 大量注入法

(Solvent Cut Large Volume Injection System)

プレカラム : SGE 社製 BPX-Dioxin II

$0.15\text{mmi. d.} \times 3\text{m}$

分析カラム : SGE 社製 BPX5

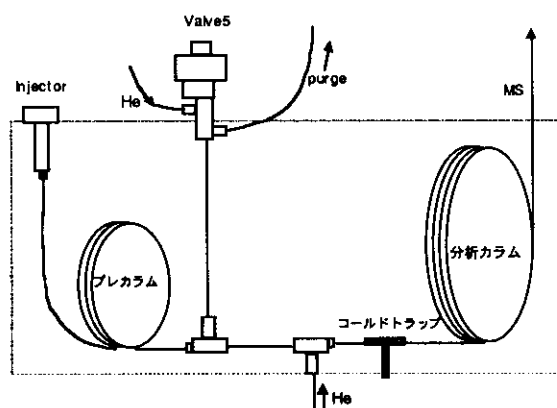
$0.1\text{mmi. d.} \times 10\text{m}$, 膜厚 $0.1 \mu\text{m}$ 、

注入口温度 : 240°C

昇温条件 : 160°C (6min) \sim $20^\circ\text{C}/\text{min}$ \sim

300°C (5.5min) \sim $70^\circ\text{C}/\text{min}$ \sim 230°C

(1min) \sim $5^\circ\text{C}/\text{min}$ \sim 300°C (6min)



プレカラム : 溶媒カットを行うため、溶媒と目的成分の分離を行う

Valve5 (Solvent Cut Valve) : 溶媒ラインへの排出の切り替えを行う

Valve6 (Cold Trap Valve) : クライオフォーカスを行うための液化炭酸ガス供給の ON/ OFF

分析カラム : 本分析の分離を行う

図 2 SCLV Injection System の概略図