

C 結果及び考察

1. モノ臭素ポリ塩素化ダイオキシン類の高分解能 GC/MS における測定条件の検討

今回、新たに臭素化ダイオキシン類のモニターリングの項目として、モノ臭素ポリ塩素化ダイオキシン類と HpBDF、OBDD を加えるために、高分解能 GC/MS における測定条件の検討を行った。

表 2 に示す 7 種類の Native 体（一臭素三塩素化体～一臭素七塩素化体）と $^{13}\text{C}_{12}$ -1-Br-2, 3, 7, 8-TeCDD の混合標準溶液 4ng/ml を作製し、これまで行ってきた 4～6 臭素化ダイオキシン類と同じカラム及び測定条件で高分解能 GC/MS 測定を行ったところ、それぞれのピークにおいて良好な分離が得られた。また、HpBDF、OBDD についても同じカラム及び測定条件で良好な形状にピークが得られた。そこで、表 1、2 に示す 4～8 臭素化ダイオキシン類と 7 種類のモノ臭素ポリ塩素化ダイオキシン類すべての異性体のモニターイオンを、それぞれの保持時間よりグループ分けし、1 回の注入で測定を行うことを試みたところ、1, 2, 3, 4, 7, 8-HxBDD と 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxBDD が分離せずに 1 本のピークになったのを除くと、その他の異性体は良好な分離を示した。

表 6 MoBPCDD/Fs の最小検出量 (SN=3)

異性体	最小検出量 (pg)
MoB-TrCDD	0.01
MoB-TeCDD	0.01
MoB-PeCDD	0.01
MoB-HxCDD	0.05
MoB-HpCDD	0.05
MoB-TrCDF	0.01
MoB-TeCDF	0.01

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

実試料として煮干しを用い、臭素化ダイ

オキシン類と臭素化ジフェニルエーテルの添加回収試験を n=5 で行った。

臭素化ダイオキシン類の結果を表 7 に示す。4～6 臭素化ダイオキシン類の回収率はどの異性体も平均は 50～57%、RSD (相対標準偏差) 10%以内で安定していた。食品中の塩素化ダイオキシン類分析のガイドラインに示されている回収率 40%以上という条件を満たしていた。ただし実際の測定の際、食品の種類によっては回収率が 40%を下回る場合もあり、今後、各工程における回収率の再確認を行う必要があると思われる。今回、初めて行ったモノ臭素ポリ塩素化ダイオキシンのクリーンアップスパイク $^{13}\text{C}_{12}$ -1-Br-2, 3, 7, 8-TeCDD の回収率は平均 81.1%、RSD8.0%と良好であった。定量値についてはすべての臭素化ダイオキシン類異性体において ND であった。

臭素化ジフェニルエーテル類の結果を表 8 に示す。クリーンアップスパイクの回収率は平均 55～79%、RSD20%以内で、ややばらつきがみられたが、良好であった。デカブロモジフェニルエーテルについては、GC/MS における感度変化が大きく、回収率を算出することが困難であった。

今回の繰り返し試験における臭素化ジフェニルエーテル類の定量値を表 9 に示す。RSD で見ると、DeBDE の 11.8%を除いては、3～7 臭素化のすべての異性体で 10%以内と、非常にばらつきが少ない結果であった。臭素化ジフェニルエーテル類は食品中から高頻度に検出される物質であり、異性体によって検出される濃度レベルが広範囲にわたっているため、精度のよい定量が要求される。分析法はまだ確立されておらず、測定を行っている機関も少ない。臭素化ジフェニルエーテル類の各異性体別の濃度が汚染パターンとして重要な意味をもつと思われるため、今後も高感度で精度のよい分析法の開発を行う予定である。

表7 煮干しを用いた PBDD/Fs の添加回収試験 (%)

	R1	R2	R3	R4	R5	平均	RSD
2,3,7,8-TeBDD	54.4	57.5	56.0	57.4	54.9	56.0	2.5
1,2,3,7,8-PeBDD	55.7	54.2	60.2	52.5	56.2	55.8	5.2
1,2,3,4,7,8-/1,2,3,6,7,8-HxBDD	52.0	47.5	56.4	48.0	53.3	51.4	7.2
1,2,3,7,8,9-HxBDD	53.6	49.9	56.3	45.6	53.4	51.8	7.9
2,3,7,8-TeBDF	49.7	53.7	47.6	47.9	51.0	50.0	5.0
1,2,3,7,8-PeBDF	56.9	55.3	57.6	56.1	56.1	56.4	1.5
2,3,4,7,8-PeBDF	54.2	53.9	59.0	55.5	57.3	56.0	3.9
1-Br-2,3,7,8-TeCDD	85.5	79.3	87.8	76.8	73.6	81.1	8.0

表8 煮干しを用いた PBDEs の添加回収試験 (%)

	R1	R2	R3	R4	R5	平均	RSD
2,4,4'-TriBDE (28)	60.8	68.4	51.4	43.1	54.8	55.7	17.2
2,2',4,5'-TeBDE (49)	59.3	68.4	55.4	48.5	57.1	57.7	12.5
2,2',4,4',5'-PeBDE (99)	71.4	86.1	65.4	55.4	72.3	70.1	15.9
2,2',4,4',5,5'-HxBDE (153)	60.1	74.8	67.2	60.5	70.6	66.6	9.6
2,2',4,4',5,6'-HxBDE (154)	70.3	72.5	69.4	62.7	70.1	69.0	5.4
2,2',3,4,4',5',6'-HpBDE (183)	89.6	82.0	77.1	68.6	75.4	78.5	10.0

表9 煮干しのPBDEs 定量値 (n=5) (pg/g)

	R1	R2	R3	R4	R5	平均	RSD
2,2',4'-TriBDE (17)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
2,4,4'-TriBDE (28)	24.6	26.7	25.8	26.2	26.2	25.9	3.1
2,2',4,4'-TeBDE (47)	56.6	57.1	54.6	51.8	57.0	55.4	4.1
2,2',4,5'-TeBDE (49)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
2,3',4,4'-TeBDE (66)	146	150	148	146.2	152	148.8	1.7
2,3',4',6'-TeBDE (71)	23.9	26.5	24.0	24.0	27.1	25.1	6.2
3,3',4,4'-TeBDE (77)	1.18	1.20	1.15	1.08	1.39	1.20	9.5
2,2',3,4,4'-PeBDE (85)	27.3	28.7	28.6	28.3	28.8	28.4	2.2
2,2',4,4',5'-PeBDE (99)	16.9	15.6	16.2	15.6	17.0	16.2	4.3
2,2',4,4',6'-PeBDE (100)	34.4	36.5	37.0	35.8	37.4	36.2	3.3
2,3',4,4',6'-PeBDE (119)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
3,3',4,4',5'-PeBDE (126)	1.66	1.70	1.51	1.45	1.52	1.57	6.8
2,2',3,4,4',5'-HxBDE (138)	80.3	79.7	78.2	82.9	81.3	80.5	2.2
2,2',4,4',5,5'-HxBDE (153)	18.6	19.6	19.1	19.4	19.3	19.2	1.8
2,2',4,4',5,6'-HxBDE (154)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
2,2',3,4,4',5',6'-HpBDE (183)	4.03	4.52	4.56	4.60	4.72	4.49	5.9
DeBDE (209)	126	109	127	100	135	120	11.8
Total PBDE	562	558	567	538	582	562	2.7

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

昨年度までの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の中で、大量注入法の一つである SCLV インジェクションシステムを用いて検討を行ってきたが、その中の問題点として、ピーク強度の不安定さが挙げられた。標準物質又はサンプルを繰り返し連続注入した場合に、ピーク強度や感度の減少が見られるという結果であった。臭素化ダイオキシン特有の GC カラム内での吸着があるのではないかと考えられた。この GC カラムにおける問題は大量注入を行う場合だけでなく、通常注入を行う場合においても改良の望まれる点であると考えられる。

そこで、今回は SGE 社製の BPX-5 (0.25mm i. d. × 30 m, 膜厚 0.25 μ m) を用いてカラムの安定性に関する検討を行った。BPX-5 の液相は 5% フェニルポリシルフェニレンシロキサンで、塩素化ダイオキシン類分析によく使用されているカラムである。しかしながら、前年度までの検討で、臭素化ダイオキシン類を分析した場合は測定回数の増加に伴うピーク強度の減少が見られ、使用が困難と考えられた。今回は SGE 社製の不活性化処理法の異なる 3 種類の BPX-5 相当品 (以後カラム A, B, C と記す)

を用いて標準物質連続注入時 (約 30 回注入) のピーク強度変化、S/N 比について検証した。PBDD/Fs 混合標準溶液 20ng/ml を注入し測定した場合、3 種類のうちカラム B は 1 回目の測定時から 6 臭素化体のピークが全く見られなかった。カラム A 及びカラム C についてはすべての異性体について良好なピーク形状、分離が得られた (ただし 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxBDD と 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxBDD は同一ピークとして検出)。表 10 は、各カラムの標準物質 20pg 注入時の S/N 比を示している。4 臭素化から 6 臭素化までの異性体すべてにおいて、カラム C の S/N 比が最も高かった。これまで我々が実試料の測定に用いてきた DB-5 (J&W 社製) と比べても同程度かそれ以上の S/N 比が得られている。図 3 にカラム A とカラム C の OCDD に対する Native-PBDD/Fs のピーク強度の変動を示している。ピーク強度の安定性もカラム C が最も優れていた。今回の検証により、カラムの不活性化処理法により、臭素化ダイオキシン類のピーク強度が異なることがわかった。特に高臭素化体ほど影響を受けやすいと思われた。

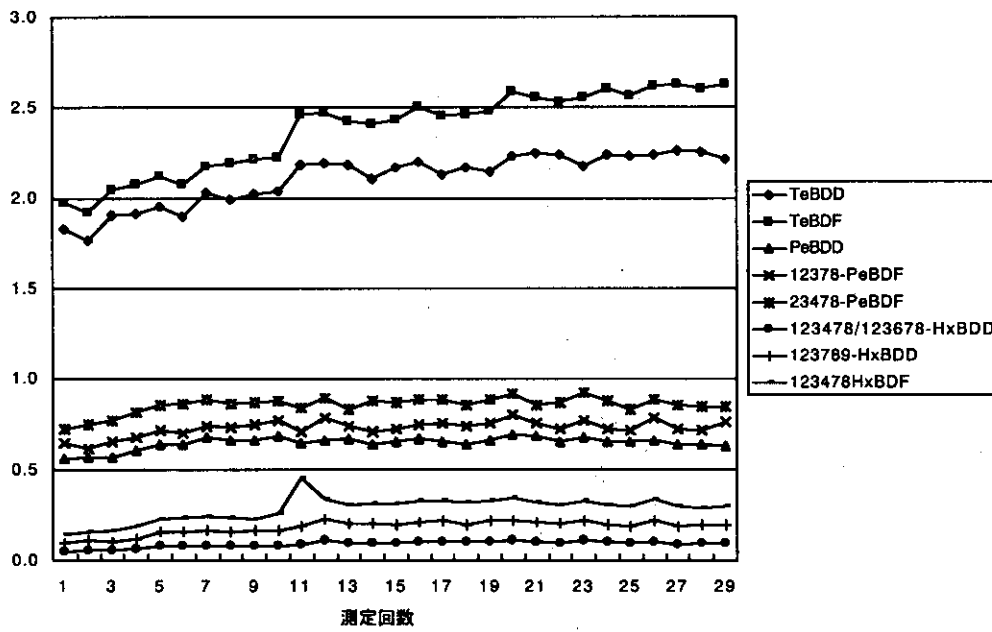
今後、実試料の分析を行った際の安定性や感度について検証を行って行く予定である。また、大量注入法への導入も検討していきたいと考えている。

表 10 3 種類のカラムにおける標準物質 20pg 注入時の S/N 比の比較

	カラム A	カラム B	カラム C	BPX-5*	DB-5
2,3,7,8-TeBDD	13642	1787	18419	15519	9040
1,2,3,7,8-PeBDD	2190	160	4077	1516	2405
1,2,3,4,7,8-/1,2,3,6,7,8-HxBDD	483	—	1513	235	1507
1,2,3,7,8,9-HxBDD	343	—	1099	171	1051
2,3,7,8-TeBDF	7301	3554	8080	8167	9398
1,2,3,7,8-PeBDF	2613	101	3481	1347	1979
2,3,4,7,8-PeBDF	2892	101	3688	1484	2200
1,2,3,4,7,8-HxBDF	333	—	1164	97	888

* 現在市販されているもの

1) カラム A



2) カラム C

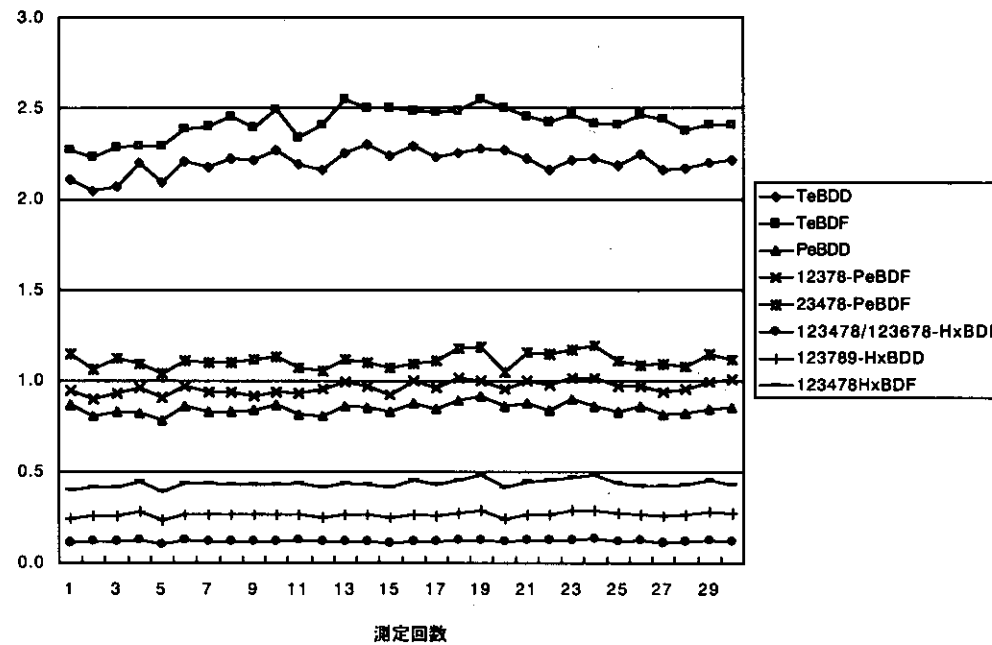
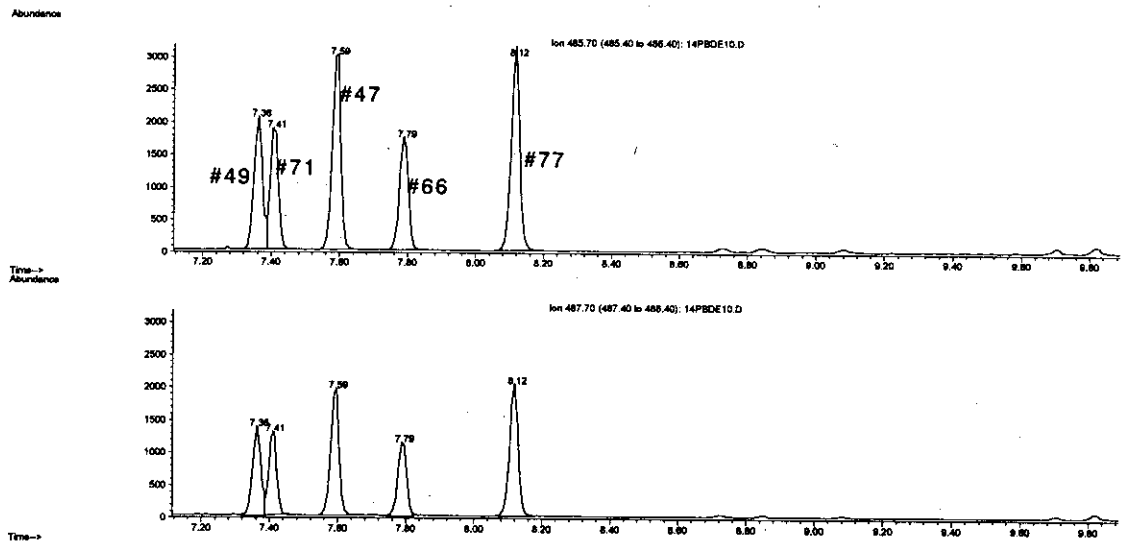


図3 PBDD/Fs 異性体ピーク強度 (OCDD ピーク強度との比) の変動

通常注入法 (100ng/ml 標準溶液 1 μ l 注入)



大量注入法 (20ng/ml 標準溶液 5 μ l 注入)

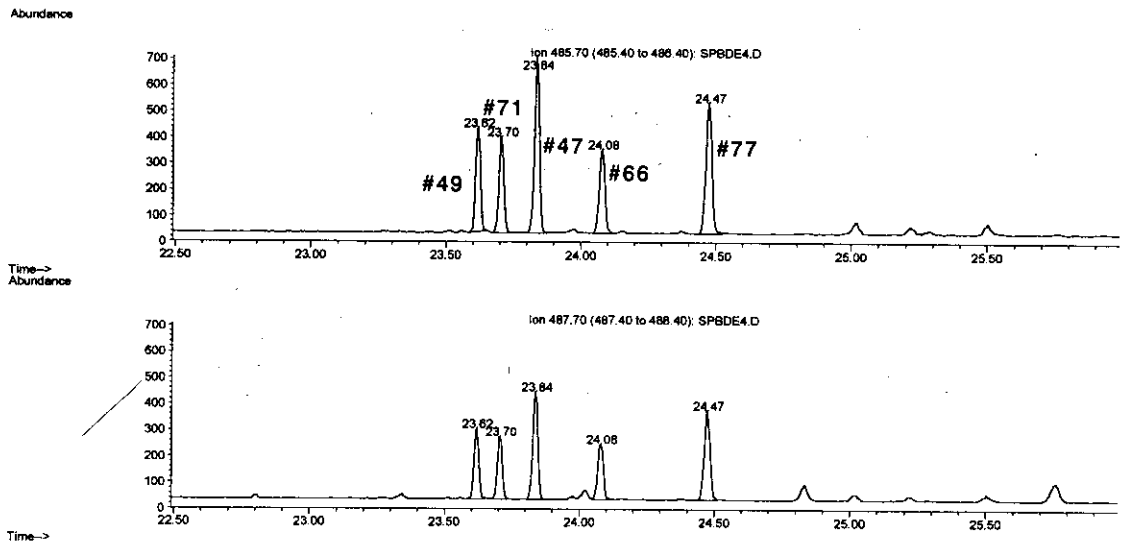
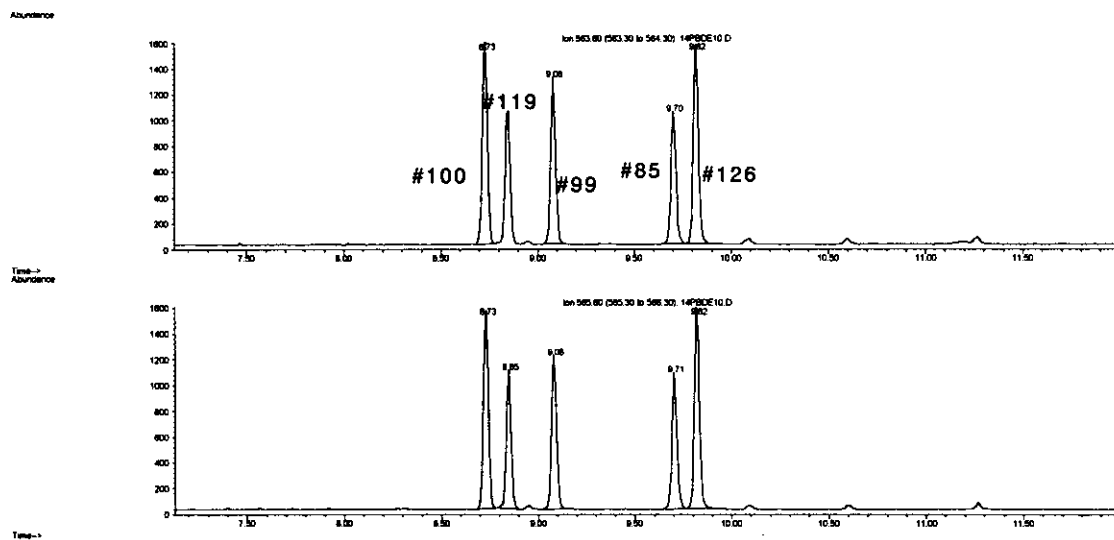


図 4-1 TeBDE の GC/MS(SIM) クロマトグラム

通常注入法 (100ng/ml 標準溶液 1 μ l 注入)



大量注入法 (20ng/ml 標準溶液 5 μ l 注入)

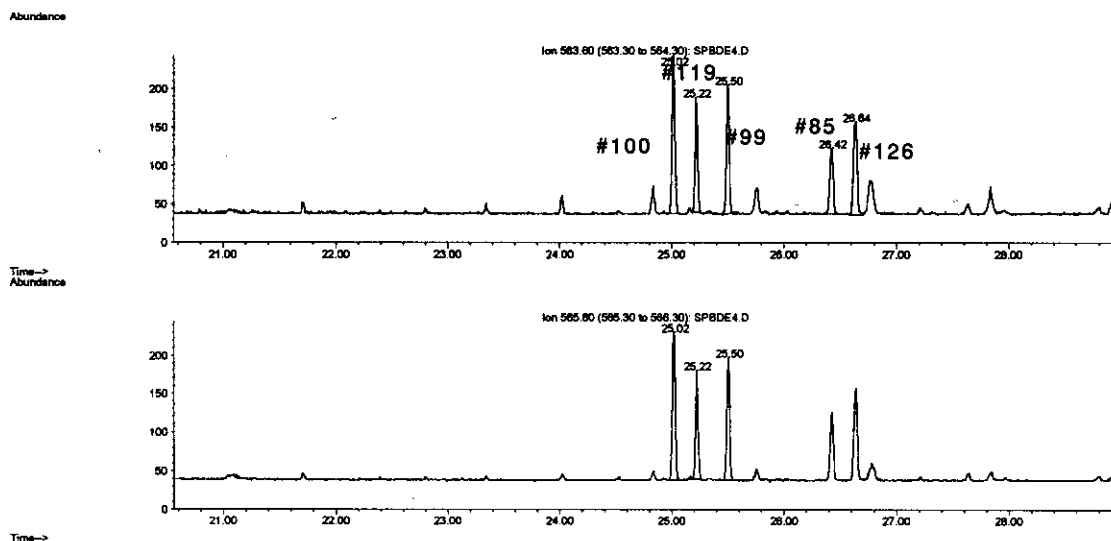
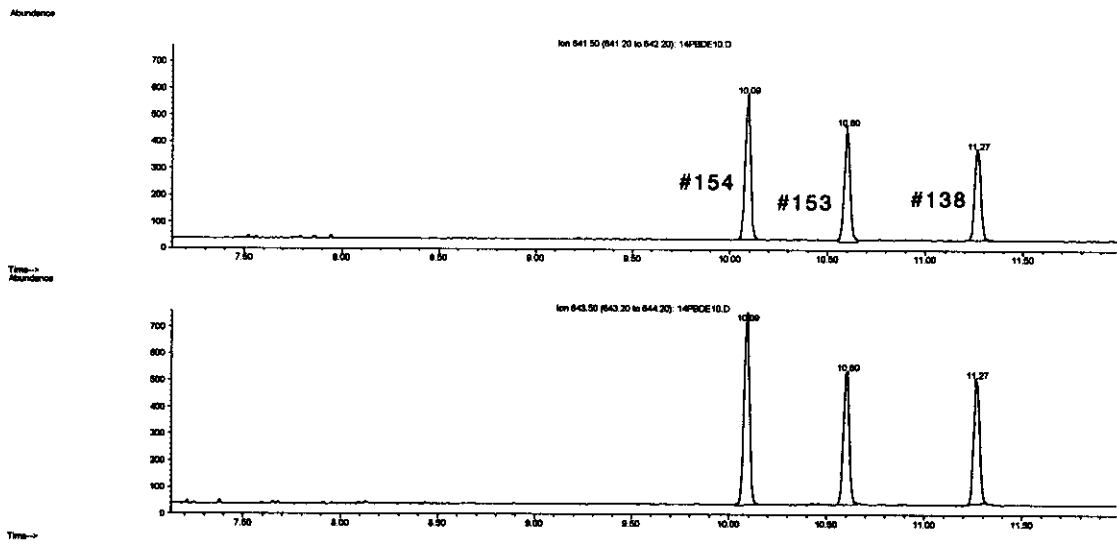


図 4-2 PeBDE の GC/MS(SIM) クロマトグラム

通常注入法 (100ng/ml 標準溶液 1 μ l 注入)



大量注入法 (20ng/ml 標準溶液 5 μ l 注入)

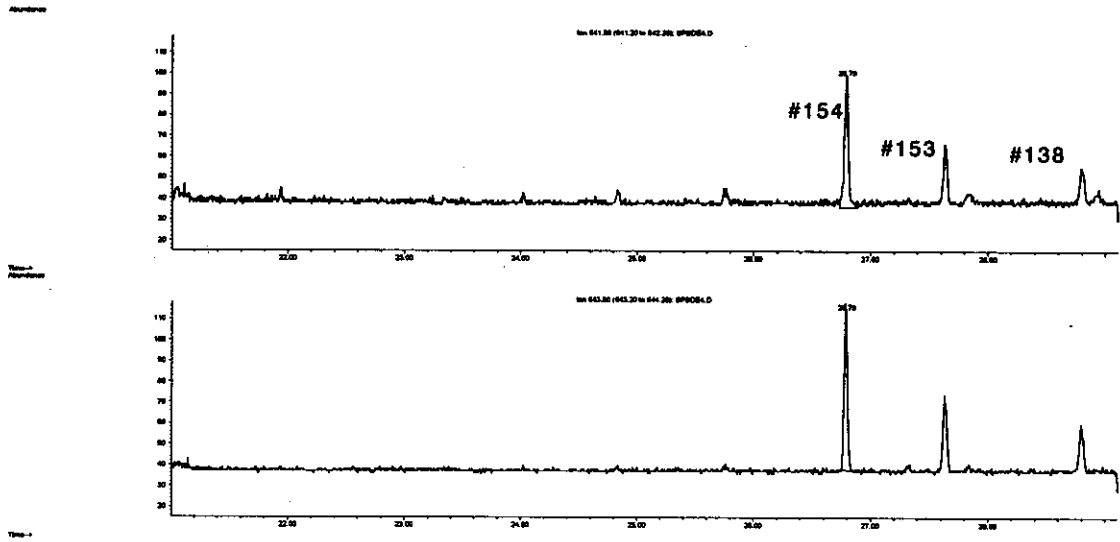
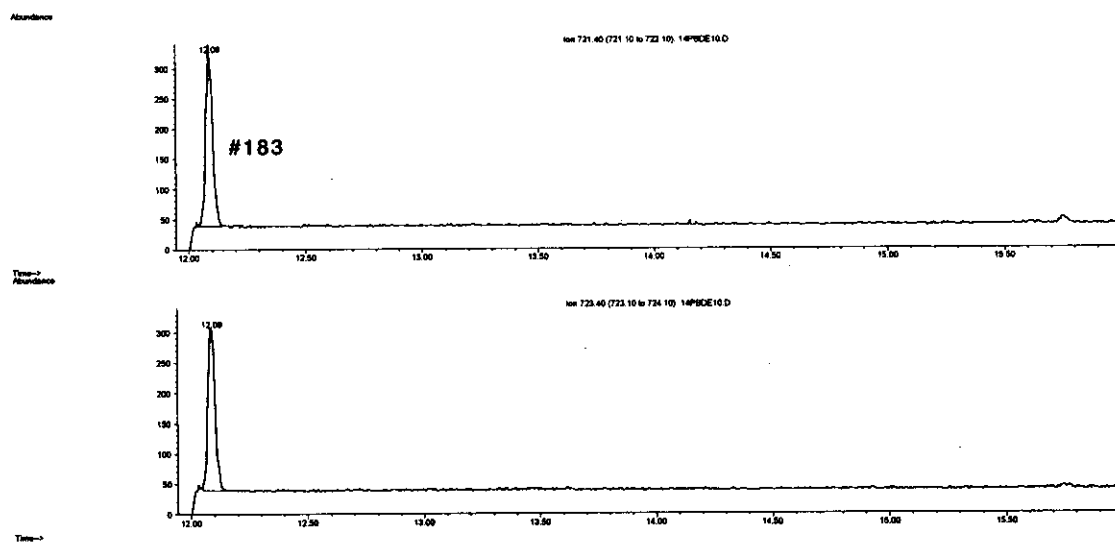


図 4-3 HxBDE の GC/MS(SIM) クロマトグラム

通常注入法 (100ng/ml 標準溶液 1 μ l 注入)



大量注入法 (20ng/ml 標準溶液 5 μ l 注入)

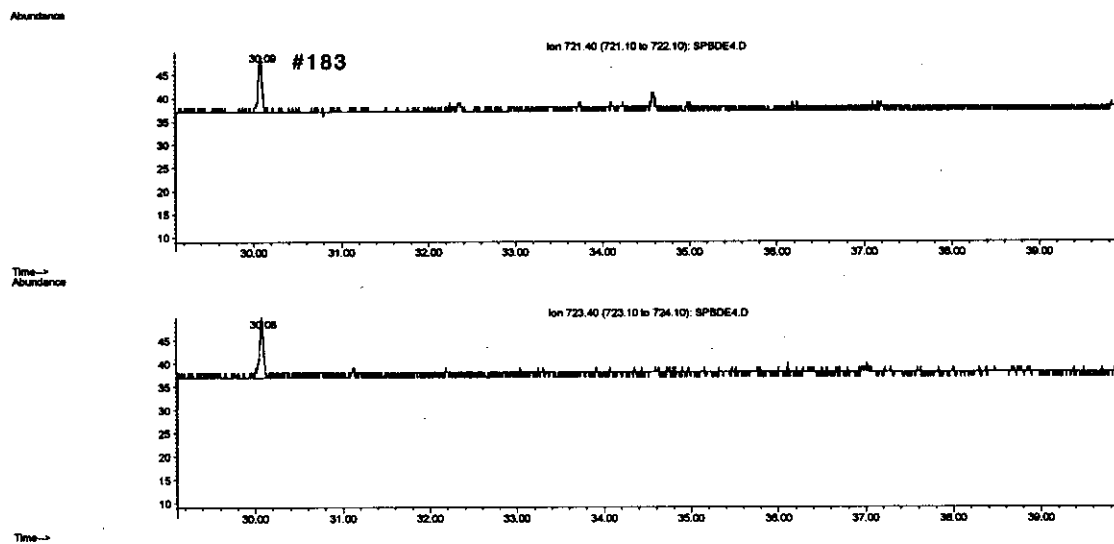


図 4-4 HpBDE の GC/MS(SIM) クロマトグラム

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

昨年度行った臭素化ジフェニルエーテル分析における大量注入のシステムはプレカラムが 0.25mmi. d. × 5m、分析カラムが 0.25mmi. d. × 15m であった。今回はプレカラムが 0.15mmi. d. × 3m、分析カラムが 0.1mmi. d. × 10m と細く短いカラムを用いて、感度の向上を試みた。通常注入法及び大量注入法によって PBDEs を測定した際のクロマトグラフを図 4-1~4-4 に示す。標準溶液中 4~7 臭素化ジフェニルエーテルすべての異性体で良好なピーク分離が見られた。しかし、感度については、4、5 臭素化体は通常注入時よりも減少した。感度の向上のために、プレカラム、分析カラム、測定条件についての改善が必要であると考えられた。

D. 考察まとめ

(1) モノ臭素ポリ塩素化ダイオキシン類、HpBDF、OBDD の測定条件を検討した結果、これまで 4~6 臭素化ダイオキシン類の測定で用いてきた同じカラム及び測定条件で良好な分離が得られた。また、今回検討した臭素系ダイオキシン類の異性体 (4~8 臭素化ダイオキシン類とモノ臭素ポリ塩素化ダイオキシン類) の GC/MS 測定は 1 回の注入で可能であった。

(2) 実試料 (煮干し) を用いた、臭素系ダイオキシン類と臭素化ジフェニルエーテル類の同時分析による添加回収試験では、50%~81%の良好な回収率がえられた。また、臭素化ジフェニルエーテルの定量値については、3~7 臭素化体で RSD が 10%以内 10 臭素化体で 11.8%という、ばらつきの少ない結果であった。今回の分析工程で精度のよい分析が可能であると考えられる。

(3) 臭素化ダイオキシン類の GC/MS 測定における高感度化に関する研究では、3 種類の GC 用カラムの安定性および感度について検証を行った結果、1 つのカラムにおいて臭素化ダイオキシン類測定に対する安定性及び感度、ピーク形状が優れていることがわかった。今後、実試料を測定し、検討していきたいと考えている。

(4) 臭素化ジフェニルエーテルの GC/MS 測定における大量注入法の検討では、ピークの良い分離は得られたものの、感度を向上させることは達成できなかった。プレカラム、分析カラム等のシステムの改良が今後の課題である。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会・協議会発表

中川礼子, 芦塚由紀, 飛石和大, 堀 就英, 飯田隆雄: 食品中の臭素化ダイオキシン類及びその関連化合物の分析, 第 29 回九州衛生環境技術協議会, pp48-49, 2003.

芦塚由紀, 中川礼子, 堀 就英, 飛石和大, 飯田隆雄: 食品中の臭素化ダイオキシン類及びその関連化合物の分析 (第 2 報), 第 40 回全国衛生化学技術協議会年会, pp42-43, 2003

芦塚由紀, 中川礼子, 飛石和大, 堀 就英, 飯田隆雄: 食品における臭素化ダイオキシン類及び臭素化ジフェニルエーテルの汚染実態, 環境ホルモン学会, 第 6 回研究発表会, p437, 2003.