

μg/mL の標準溶液を作製した。

## 2) 測定機器

Varian 社製 GC/MS/MS :

ガスクロマトグラフ CP3800

質量分析計 1200MS/MS

## 3) 測定条件

使用カラム : DB-5 (Agilent)

0.25 mm i.d. × 15 m 膜厚 0.1 μm,

注入口温度 280 °C

昇温条件 : 100 °C (1 min) — (10 °C

/min) — 320 °C (7 min)

イオン源温度 : 270 °C

トランスファーライン温度 : 300 °C

モニターイオン : 表 1 に示す。

表 1 PBDEs (Tri-Deca) 及び DBDPE

測定におけるモニターイオン

	Native 体		<sup>13</sup> C-ラベル体
	定量イオン	定性イオン	
TriBDE	408 > 248 (CE 30V)	408 > 246 (CE 30V)	420 > 260 (CE 30V)
TeBDE	326 > 219 (CE 30V)	326 > 217 (CE 30V)	338 > 230 (CE 30V)
PeBDE	404 > 297 (CE 30V)	404 > 295 (CE 30V)	416 > 309 (CE 30V)
HxBDE	484 > 377 (CE 30V)	484 > 375 (CE 30V)	496 > 389 (CE 30V)
HpBDE	723 > 562 (CE 30V)	723 > 564 (CE 30V)	735 > 576 (CE 30V)
OcBDE	642 > 535 (CE 45V)	642 > 533 (CE 45V)	654 > 547 (CE 45V)
NoBDE	721 > 613 (CE 45V)	721 > 615 (CE 45V)	—
DeBDE	799 > 640 (CE 45V)	799 > 642 (CE 45V)	—
DBDPE	486 > 406 (CE 25V)	486 > 327 (CE 30V)	493 > 413 (CE 25V)

### 1-1-3 LC/MS/MS による測定条件の検討

DBDPE 及び PBDEs の化合物について

LC/MS/MS を用いた測定法の検討を行った。

イオン化法として低・中極性の化合物のイオン化法としてよく用いられる大気圧化学イオン化法 (APCI) を用いた。

#### 1) 標準溶液

LC/MS/MS の検討用の標準品として DBDPE は CIL 社製の 1,2-(BISPENTABROMOPHENYL) ETHANE

UNLABELED 25 μg/mL (トルエン溶液) を用いた。DeBDE は CIL 社製の Decabromodiphenylether 50 μg/mL (ノナン溶液) を用いた。それぞれ希釈して 5

μg/mL の標準溶液を作製した。窒素ガスでノナンを乾固し、メタノールを加えてメタノール溶液とした。

#### 2) 測定機器

LC/MS/MS :

Quattro ULTIMA Pt (Micromass)

#### 3) LC 条件

使用カラム : CAPCELL PAK MG II (2.0 × 150 mm), 粒径 5 μm

移動相 : メタノール 100 % 15 分

流量 : 0.3 mL

注入量 : 10 μL

カラム温度 : 40 °C

#### 4) MS 条件

##### 1) DeBDE

測定モード : APCI ネガティブ

コロナ電流 : 10 μA

コーン電圧 : 35 V

イオン源温度 : 130 °C

プローブ温度 : 300 °C

モニターイオン及びコリジョン電圧 :

Native 体 896 > 736 (定量イオン)

896 > 734 (確認イオン)、

<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-ラベル体 908 > 748

## 1-2. 前処理法の検討

### 1-2-1 シリカゲルカラム及びフロリジルカラムによる精製法の検討

食品試料を精製するために、これまで PBDEs 及び PBBs の前処理で使用してきたカラム(ここではシリカゲルカラム及びフロリジルカラム)の添加回収試験を行った。DBDPE の前処理法としてこれらのカラムが適用可能かを検討した。

#### 1) 試薬等

和光純薬製のシリカゲル (S-1)、関東化学社製のフロリジル (PR) を用いた。

#### 2) 標準品

DBDPE 及び PBDEs の検量線用には Wellington Laboratories 社製の Calibration Solutions for HRGC/HRMS Analysis of Brominated Flame Retardants、クリーンアップスパイクには Labelled Compound Solution for HRGC/HRMS Analysis of Brominated Flame Retardants、シリンジスパイクは Internal/Injection Standard Solution for HRGC/HRMS Analysis of Brominated Flame Retardants を使用した。PBBs は Wellington 社製及び AccuStandard 社製の臭素化ビフェニル標準溶液を、Co-PXBs は Cambridge Isotope Laboratories 社製の標準品を使用した。

#### 3) 装置

高分解能質量分析計 (HRMS) :

Micromass Autospec ULTIMA

高分解能ガスクロマトグラフ (HRGC) :

Agilent 社 HP6890

#### 4) 測定条件

使用カラム : DB-5 (Agilent)

0.25  $\mu$ m i. d.  $\times$  15 m, 膜厚 0.1  $\mu$ m

インジェクター温度 : 260  $^{\circ}$ C

インターフェイス温度 : 280  $^{\circ}$ C

キャリアーガス流量 : 1.5 mL/min

昇温温度 : 100  $^{\circ}$ C (1min)  $\rightarrow$  20  $^{\circ}$ C/min  $\rightarrow$  200 $^{\circ}$ C  $\rightarrow$  10  $^{\circ}$ C/min  $\rightarrow$  320  $^{\circ}$ C (7 min)

#### 5) 分析方法

シリカゲルカラムは 130  $^{\circ}$ C で 3 時間活性化したものを使用した。1.5 cm のカラム管に 1 g を乾式充填し、10%ジクロロメタン/ヘキサン 100 mL でコンディショニングした。クリーンアップスパイク (添加量 250~5000 pg) を添加し、10%ジクロロメタン/ヘキサン 150 mL で溶出させた。溶出液を濃縮し、シリンジスパイクを加えて HRGC/HRMS で測定し、回収率を算出した。

フロリジルカラムは 130  $^{\circ}$ C で 3 時間活性化後、1%含水に調製したものを使用した。2 cm のカラム管に 5 g を乾式充填し、ヘキサン 100 mL でコンディショニングした。クリーンアップスパイク (添加量 250~5000 pg) を添加し、ヘキサン 150 mL で第 1 画分を溶出させた後、60%ジクロロメタン/ヘキサン 200 mL で第 2 画分を溶出させた。各溶出液を濃縮し、シリンジスパイクを加えて HRGC/HRMS で測定し、回収率を算出した。

### 1-2-2 液-液分配の検討

食品試料中の脂肪分等の妨害成分を除去するための方法としてアセトニトリル/ヘキサン分配、DMSO/ヘキサン分配を検討した。

アセトニトリル分配はヘキサン 1 mL に  $^{13}$ C<sub>12</sub>-ラベル体の内部標準物質を添加し、アセトニトリル (ヘキサン飽和したもの)

2 mL を加えて混合した後、2000 rpm で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層を別の遠心管に移した。ヘキサン層に 2 mL のアセトニトリルを加えて同様の操作をさらに 2 回行い、アセトニトリル層を集めた。アセトニトリル層にヘキサン洗浄水 30 mL を加えて、ヘキサン 5 mL で 3 回抽出した。DMSO 分配も同様にヘキサン 1 mL に内部標準溶液を添加し、DMSO (ヘキサン飽和したもの) 2 mL を加えて 3 回抽出を行った後、ヘキサン洗浄水 30 mL を加えて、ヘキサン 5 mL で 3 回抽出を行った。ヘキサン溶液はそれぞれ無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮し、最終検液 25  $\mu$  L とした。HRGC/HRMS で測定し、回収率を算出した。

#### 1-2-3 スルホキシドカラムを用いた精製法の検討

DMSO/ヘキサン分配と同様の精製効果がある市販の SUPELCO 社製のカラム Supelclean Sulfoxide(ガラスカラム, 6 g/20 mL)を用いて検討を行った。

カラムはアセトン 20 mL、ヘキサン 20 mL の順にコンディショニングを行った後、クリーンアップスパイクを添加したヘキサン溶液 1 mL を負荷した。その後、ヘキサンで溶出させた。溶出液のヘキサンを分画し、最適な溶出量を検討した。

また、サンプル抽出液にクリーンアップスパイクを添加したものについても、溶出の確認を行った。

#### 1-2-4 実試料 (個別試料およびトータルダイエット試料) の分析法の検討

##### 1) 分析試料

分析法検討用の個別試料として魚、トータルダイエット試料は 2010 年に福岡県で調製したトータルダイエット試料の第 1~7 群を用いた。

##### 2) 測定機器

高分解能質量分析計 (HRMS) :

Micromass Autospec ULTIMA

高分解能ガスクロマトグラフ (HRGC) :

Agilent 社 HP6890

##### 3) 測定条件

使用カラム : DB-5 (Agilent)

0.25  $\mu$  m i. d.  $\times$  15 m, 膜厚 0.1  $\mu$  m  
インジェクター温度 : 260  $^{\circ}$ C

インターフェイス温度 : 280  $^{\circ}$ C

キャリアーガス流量 : 1.5 mL/min

昇温温度 : 100  $^{\circ}$ C (1min)  $\rightarrow$  20  $^{\circ}$ C/min  
 $\rightarrow$  200 $^{\circ}$ C  $\rightarrow$  10  $^{\circ}$ C/min  $\rightarrow$  320  $^{\circ}$ C (7 min)

##### 4) 分析方法

均一化した試料 50 g を特注ビーカー (直径 9 cm、高さ 7 cm) に精秤し、-20  $^{\circ}$ C で凍結した後、凍結乾燥機 (VIRTIS 社製 AD2.0 ES-BC) で約 35 時間かけて乾燥させた。乾燥し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。クリーンアップスパイクを添加した後、高速溶媒抽出を行った。高速溶媒抽出の条件を表 2 に示す。抽出液は 40  $^{\circ}$ C 以下で約 100 mL になるまで減圧濃縮した。ここで抽出液の一部を採取し、乾固させた後の残物の重量を脂肪量とした。硫酸 20 mL を加えて 3 回処理を行った後、ヘキサン洗浄水 20 mL で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで脱水後、2 mL まで減圧濃縮し、シリカゲルカラムで精製し

た。溶出液 150 mL を減圧濃縮し、ヘキサン 5 mL に置換した後、フロリジルカラムに負荷し、ヘキサン 150 mL で PBDEs、PBBs 及び Co-PXBs を溶出させた。溶出液は約 1 mL まで濃縮し、さらに夾雑物を除去するために、DMSO 分配を行い、測定試料とした。PBDEs、PBBs 及び Co-PXBs の最終検液はシリンジスパイクを加えて 25  $\mu$ L とし、HRGC/HRMS で測定を行い回収率を算出した。

表 2 高速溶媒抽出の条件

機器	DIONEX 社製 ASE-300
抽出条件	オープン温度 100 $^{\circ}$ C
抽出圧力	1500 psi
抽出溶媒	ジクロロメタン/ヘキサン (1:9)
オープン昇温時間	7 分
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	3 回
充填用ガラスビーズ	使用前にアセトン/ヘキサン(2:1)、ジクロロメタン/ヘキサン(1:9)で洗浄

2 ヘキサブプロモシクロドデカン(HBCDs)のマーケットバスケット試料の分析

### 1) 実験材料

2010 年に九州（福岡県）で調製したマーケットバスケット試料の第 1 群から 13 群（第 10 群から 12 群については n=2）の食品群別試料を分析した。各食品群の食品分類、九州地区における食品群別の 1 日摂取量及び最終分析試料重量（試料調製後の重量）を表 3 に示す。今回は考察のために 10-B 群の構成食品であった生鮮魚 14 試料及び加工食品 4 試料について、マーケットバスケット試料と同様の方法で前処理及び定量分析を実施した。各魚試料の生育地等は結果の段落に別に記載した。

### 2) 標準溶液及び試薬

メタノール、ジクロロメタン、ヘキサンは、関東化学社製ダイオキシン類分析用、または残留農薬試験・PCB 試験用を、また、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、及び  $\gamma$ -HBCDs 標準品、及びその  $^{13}\text{C}_{12}$  ラベル体は Cambridge Isotope Laboratories 社製を用いた。

44%硫酸シリカゲルは和光純薬工業社製ダイオキシン類分析用を用いた。

### 3) 機器及び測定条件

#### GPC 装置

HBCDs 分析での精製過程に、GPC を下記の条件（表 4）で用いた。GPC のポンプは島津製作所の LC-10AD VP を用い、分画装置は東京理化学器械製 EYELA FRACTION CORECTOR DC-1500 を使用した。

#### LC/MS/MS 装置

HBCDs 分析には LC/MS/MS（Waters 社製 2695 / Quatro Micro API）を下記の分析条件（表 5）で用いた。

表3 九州地区におけるマーケットバスケット試料の食品群別重量表

食品群	食品分類	1日摂取量(g)	最終分析重量(g)	
第1群	米、米加工品	348.7	415.4	
第2群	米以外の穀類、種実類、いも類	154.5	222.8	
第3群	砂糖類、菓子類	32.8	35.2	
第4群	油脂類	9.9	9.9	
第5群	豆類、豆加工品	57.4	60.3	
第6群	果実、果汁	87.6	99.6	
第7群	緑黄色野菜	102.6	110.3	
第8群	その他の野菜類、キノコ類、海藻類	202.0	228.9	
第9群	酒類、嗜好飲料	685.1	685.1	
第10群*	魚介類	85.5	A	93.8
			B	95.0
第11群*	肉類、卵類	128.6	A	147.6
			B	148.9
第12群*	乳、乳製品	109.9	A	109.9
			B	109.9
第13群	調味料	85.3	85.3	

\* 第10、11、12群は n=2 で調製した試料を用いた。

表4 HBCDs 分析に用いた GPC 条件

カラム	昭和電工社製 Shodex CLNpak EV-2000 (300×20 mm i. d.)
プレカラム	昭和電工社製 Shodex CLNpak EV-G AC
移動相	アセトン/シクロヘキサン(3:7, v/v) 流速: 5 mL/min

表5 LC/MS/MS の分析条件

カラム	GL Sciences 社製 Intertsil ODS-3(150×2.1 mm i. d., 5 μm)
カラム温度	40℃
注入量	5 μL
移動相	10 mM 酢酸アンモニウム:メタノール:アセトニトリル=20:50:30
移動相流量	0.2 mL/min
測定モード	ESI negative MRM 測定
キャピラリー電圧	2.0 kV
イオン源温度	130 °C
モニターイオン	Native-HBCDs ; 641>79 (定量)、639>79 (確認) <sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HBCDs ; 653>79 (定量)、651>79 (確認)

#### 4) 分析操作

試料約 5 g を秤取して精製水 5 mL を加え、<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-HBCDs 1 ng を内標準(IS)と

して添加した。これに抽出溶媒としてメタノール 20 mL を加え 2 分間高速ホモジナイザーにより攪拌抽出した。こ

れをろ過し、ろ液は 300 mL 容分液ロートに移した。残渣は、2 回目はメタノール 10 mL と 10%ジクロロメタン/*n*-ヘキサン混液(以下 10% DCM/Hex) 10 mL で、3 回目には 10% DCM/Hex 20 mL で再度ホモジナイズ抽出を行った。また、洗液はメタノール、10% DCM/Hex 各 10 mL を用いた。ろ液及び洗液をすべて 300 mL 容分液ロートに合わせ、予めジクロロメタンで洗浄した 5% NaCl 水溶液 120 mL を加え、5 分間振とうした後、静置した。分離した有機層は綿栓した三角ロート上の無水硫酸ナトリウムを通過させ、ナス型フラスコに採った。その後、10% DCM/Hex 40 mL で 2 回同様の液一液抽出及び脱水を行った。集めた有機層はエバポレータで減圧濃縮し、アセトン/シクロヘキサン(3:7)に置換し 10 mL に定容した。その内 1.25–2.5 mL を GPC 装置に注入し、粗脂肪溶出直後の 12 分~18 分の HBCDs 溶出画分を集めて濃縮後、44%硫酸シリカゲルミニカラムで精製(溶出液は 20%DCM/Hex を 8 mL 使用した)し、窒素ガス気流下で溶媒除去した。その後、少量のジクロロメタンに溶解させインサートバイアルに移し、窒素ガスで乾固後、メタノール 25–50  $\mu$ L に溶解させて LC/MS/MS で測定した(図 2)。

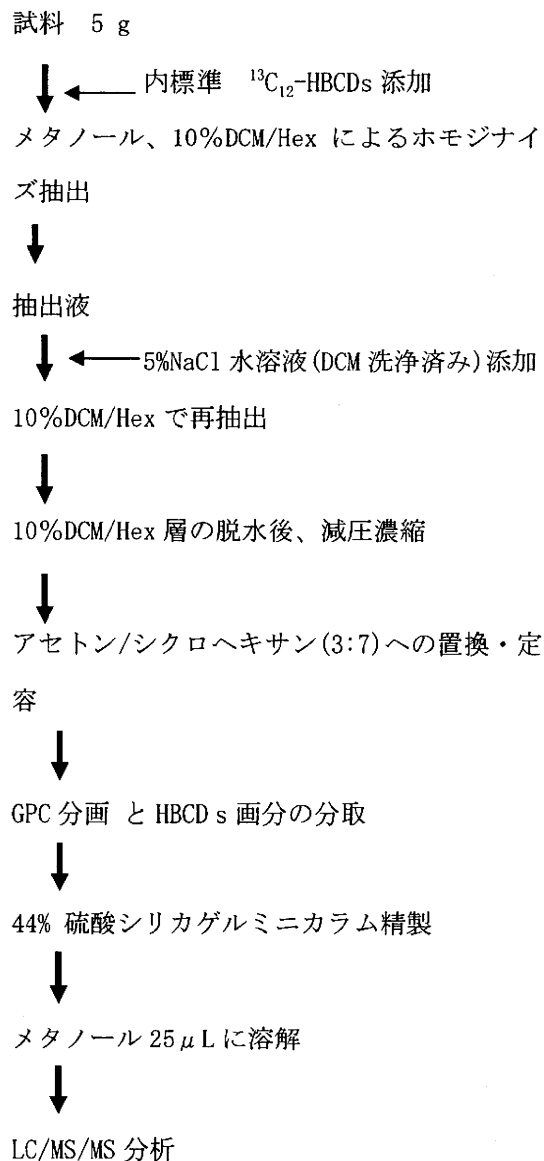


図 2 HBCDs の分析フロー

## C. 結果及び考察

### 1. DBDPE 及びその他の臭素系難燃剤の分析法の検討

#### 1-1 DBDPE 及びその他の臭素系難燃剤の機器分析における測定条件の検討

これまで PBDEs 等の臭素系難燃剤の測定は HRGC/HRMS を用いてきた。今回は DBDPE の HRGC/HRMS による測定条件の検討(分析カラムや昇温条件等)を行った。さらに DBDPE 及びその他の臭素系難燃剤について、より簡便で高感度な測定法を確立するため、LC/MS/MS 及び GC/MS/MS を用いた測定法についても検討を行った。

#### 1-1-1 高分解能質量分析計(HRGC/HRMS)による測定の検討

新規の難燃剤である DBDPE の測定機器として、HRGC/HRMS を用いた測定条件の検討を行った。最初に、分析カラムとして我々がこれまで PBDEs 及び PBBs の測定に用いてきた DB-5 の 30 m のカラムで検討を行ったが、DBDPE のピークは検出できなかった。そこで次に、DB-5 の 15 m のカラムを用いて測定を行ったところ、保持時間 19.17 分に DBDPE のピークが検出された。図 3 にクロマトグラムを示す。装置における DBDPE の検出下限値(SN=10)は 1 pg であった。

#### 1-1-2 GC/MS/MS による測定条件の検討

GC/MS/MS を用いた DBDPE 及び PBDEs の測定条件を検討した。

HRGC/HRMS と同じ DB-5 の 15 m で DBDPE の測定を行い、モニターイオンとコリジョンガス等を検討したところ、図 4 のクロマトグラムに示す通り、Native 体、<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-ラベル体のいずれも良好なピークが得られた。装置における DBDPE の検出下限値

は 1 pg であり、HRGC/HRMS とほぼ同等の感度が得られたが、感度がやや不安定であったため、今後さらに条件検討が必要であると思われた。

PBDEs は 3 臭素化体(TriBDE)から 10 臭素化体(DeBDE)までの異性体で良好なピークが得られた。図 5 にクロマトグラムを示す。Tri-PeBDE の装置における検出感度は HRGC/HRMS とほぼ同等であったが、6 臭素化以上の高臭素化体は HRGC/HRMS と比較すると感度は 1/2-1/5 に下がり、DeBDE の感度は 1/10 程度であった(装置における検出下限値は 5 pg)。

#### 1-1-3 LC/MS/MS による測定条件の検討

LC/MS/MS による DBDPE 及び PBDEs の測定を検討した。イオン化法は低・中極性の化合物のイオン化法として用いられる APCI 法を用いた。移動相にはメタノールを用いた。コロナ電流、コーン電圧やプローブ温度等の条件を変えて検討を行ったが DBDPE のピークは検出されなかった。

PBDEs の検討では低臭素化体は感度が悪く、ピークの検出は困難であったが、DeBDE は APCI のネガティブモードで良好なピークが得られた(図 6)。DeBDE の LC/MS/MS における検出下限値は 2pg であった。HRGC/HRMS における装置の検出感度と比較すると悪かったが、注入量を増やすことによって、HRGC/HRMS と同程度の試料の定量下限値を達成することが可能と考えられた。実試料においても良好なピークが得られた(図 6)。このことから難燃剤成分である DeBDE のみのモニタリングであれば、LC/MS/MS による測定は比較的安定した感度が得られ、有用であると考えられた。

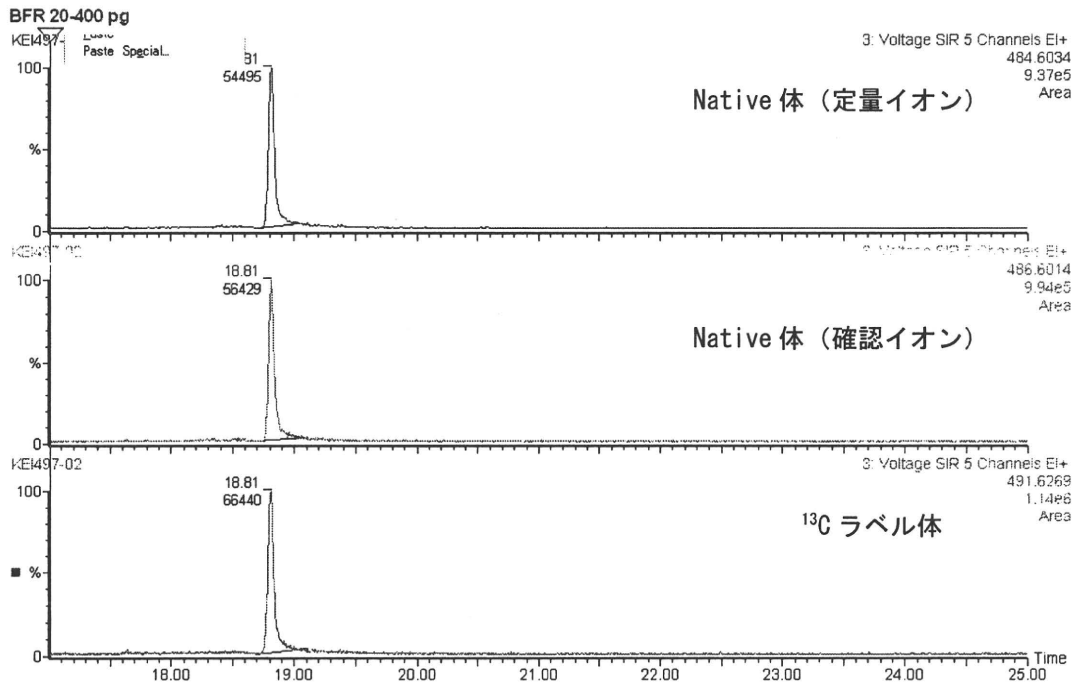


図3 DBDPEのHRGC/HRMS測定クロマトグラム(Native体 400 ng/mL, <sup>13</sup>C-ラベル体 500 ng/mL)

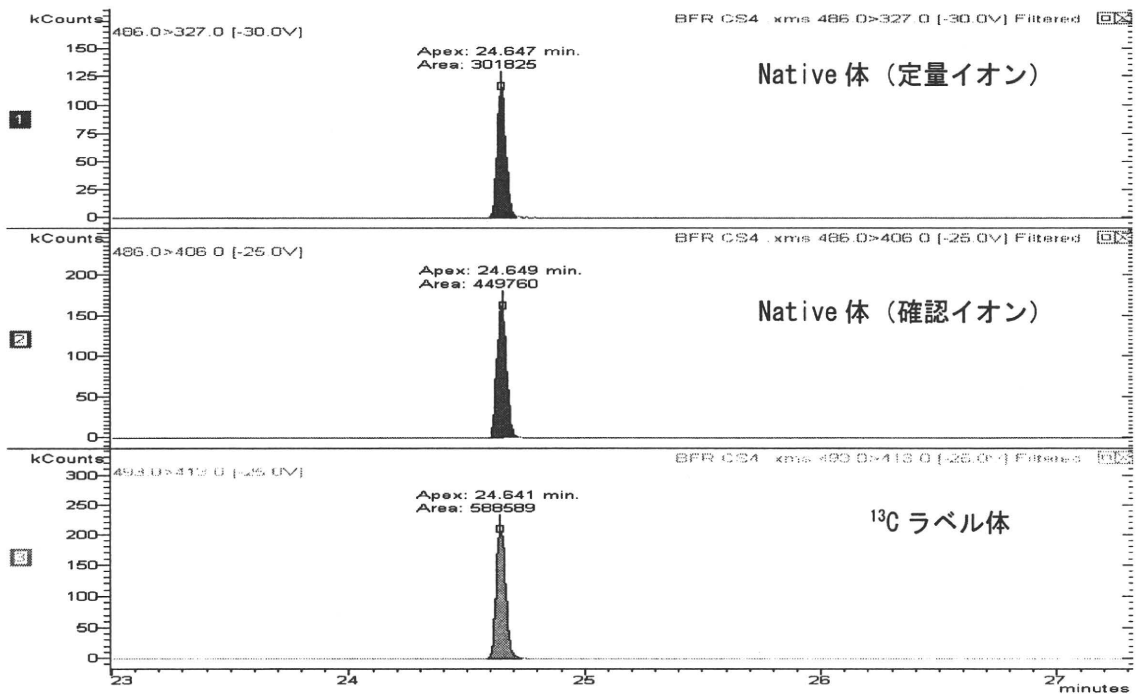


図4 DBDPEのGC/MS/MS測定クロマトグラム(Native体 400 ng/mL, <sup>13</sup>C-ラベル体 500 ng/mL)



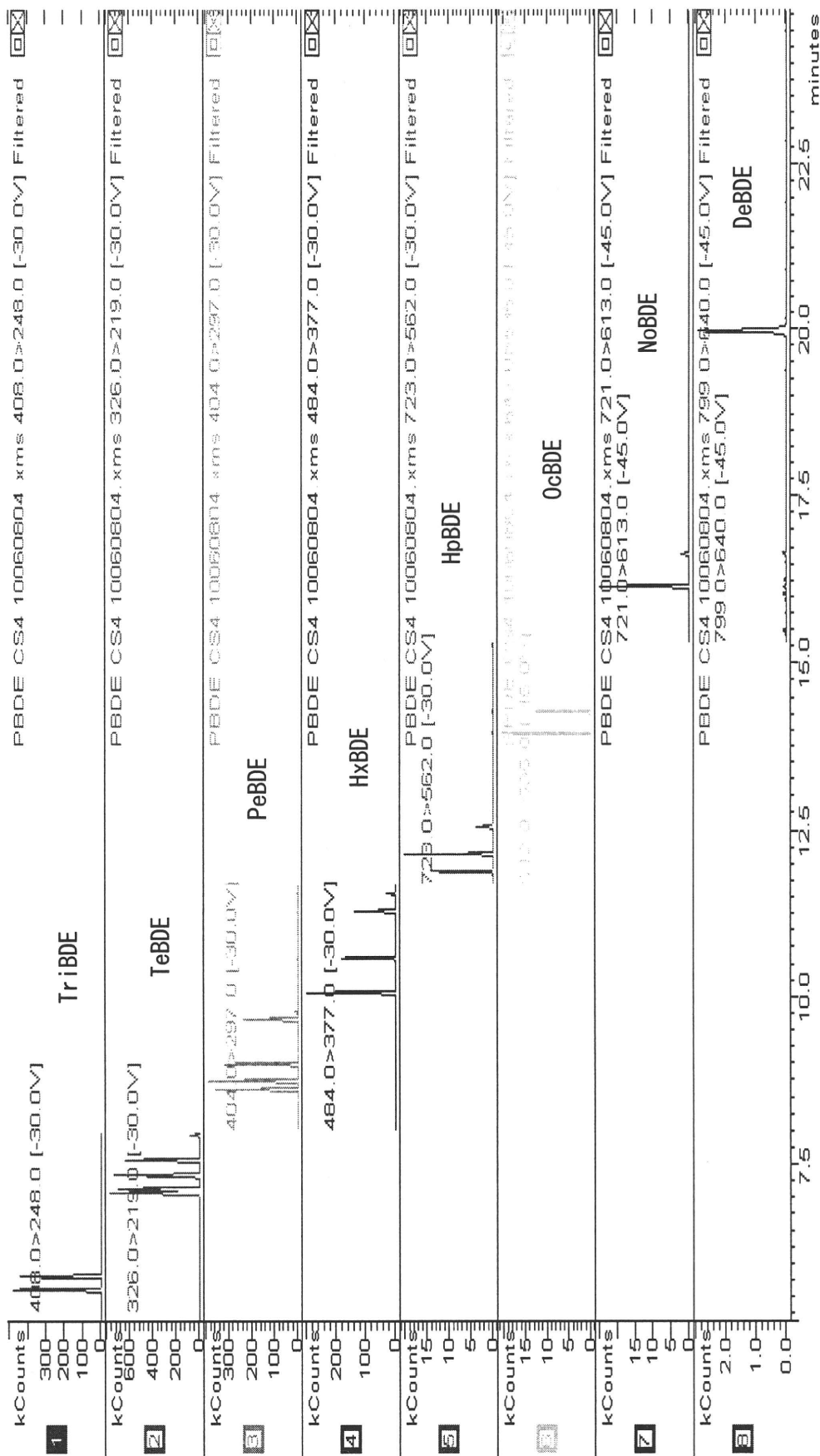
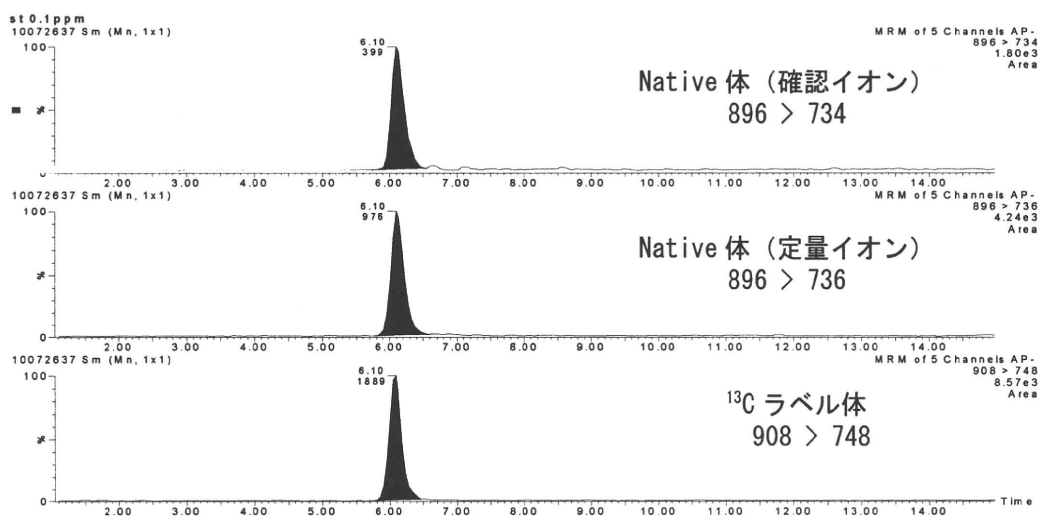


図 5 PBDEs (Tri~DeBDE)の GC/MS/MS 測定クロマトグラム (20~100 ng/mL)

(a) DeBDE 標準溶液(0.1 ppm)



(b) 魚試料(カレイ)のクロマトグラム

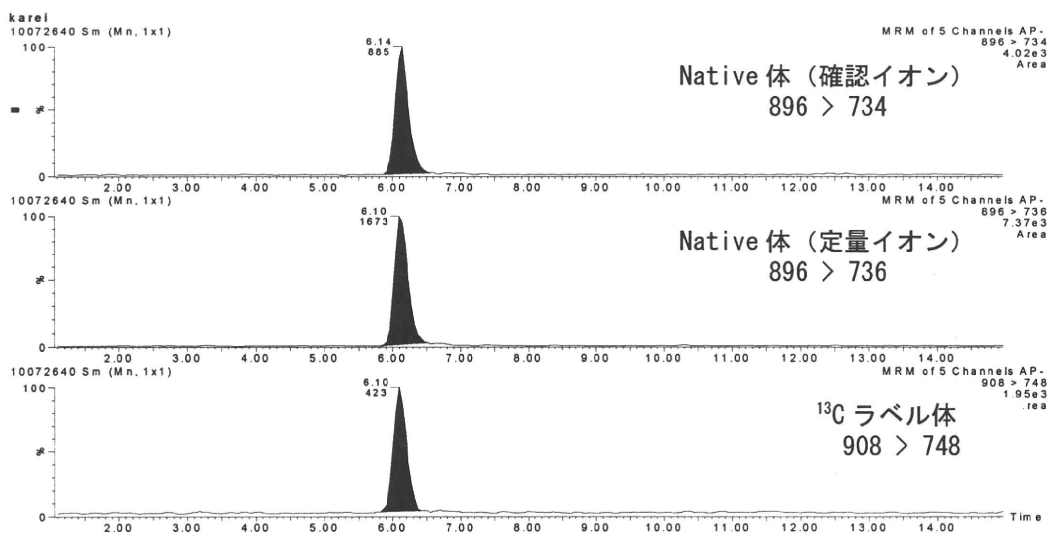


図 6 DeBDE の LC/MS/MS 測定クロマトグラム

## 2. 前処理法の検討

### 2-1 精製カラムの検討

シリカゲルカラム及びフロリジルカラム精製における添加回収試験を行った。その結果を表 6 に示す。DBDPE は PBDEs よりもシリカゲルカラムでは溶出されにくいと考えられたため、10%ジクロロメタン/ヘキサン及び 25%ジクロロメタン/ヘキサンで溶出を行い、回収率を比較した。DBDPE の回収率はやや悪かったが、10%ジクロロメタン/ヘキサンと 25%ジクロロメタン/ヘキサンで、それほど回収率に違いはなかったため、10%ジクロロメタン/ヘキサンを用いることにした。

フロリジルカラムでは DBDPE は PBDEs と同様に第 1 画分のヘキサン溶液に溶出することがわかった。第 2 画分にはほとんど溶出されていなかった (4%未満)。

### 2-2 液-液分配の検討

シリカゲルカラム、フロリジルカラム後の精製法として、ヘキサン/DMSO 分配及びヘキサン/アセトニトリル分配の 2 通りの液-液分配処理の検討を行った結果を表 7 に示す。ヘキサン/DMSO 分配の方が若干回収率は高かったが、ほとんど変わらない値であった。

### 2-3 スルホキシドカラムを用いた精製法の検討

DMSO 分配処理と同様の効果がある市販のカラムであるスルホキシドカラムを検討した。スルホキシドカラムには充填量が 3g と 6g のカラムが市販されている。食品試料の分析はマトリックス成分が多い試料もあることから、充填量が 6g のガラスカラムを用いて検討を行うことにした。岩村ら<sup>6)</sup>の報告によると、PBDEs のス

ルホキシドカラムの溶出はヘキサン/ジエチルエーテル系では時間を要し、ヘキサンアセトン系で溶出しやすいことが報告されている。最初にヘキサンでの溶出量を確認したところ、ヘキサン 16 mL までは PBDEs 及び DBDPE は溶出しなかった。PBDEs では DeBDE が最も溶出が遅く、DBDPE はさらに溶出されにくいことがわかった。次に、ヘキサン 12 mL で溶出した後、アセトンで溶出したところ、15 mL でほぼすべての PBDEs 及び DBDPE が溶出したが、アセトンのみの溶出ではカラムからの若干の溶出物があったため、50%アセトン/ヘキサンで溶出することとした。その結果、20 mL の溶出で表 8 の通り良好な回収が得られた。

### 2-4 個別試料およびトータルダイエット試料における分析法の検討

個別試料及びトータルダイエット試料の実試料での分析法を検討した。試料の抽出はこれまで通り、ASE で抽出した。抽出液を硫酸処理した後、シリカゲルカラムで精製し、フロリジルカラムに負荷した。PBDEs 及び PBBs、DBDPE を分画したものの (第 1 画分) を濃縮し、DMSO/ヘキサン分配で精製を行った。その回収率を表 9 に示す。今回検討した食品群、魚試料について 40~70%の範囲の回収率が得られた。魚試料のタイについても良好な回収率が得られた。また、食品群第 4 群と第 7 群については DMSO/ヘキサン分配の替わりにスルホキシドカラムを用いて精製を行った結果も、ほぼ同等の回収率が得られた。今後、様々な食品試料の分析に応用し、実試料の分析を行っていく予定である。

表6 カラム精製における異性体の回収率 (%)

	シリカゲルカラム <sup>1)</sup>		フロリジルカラム <sup>2)</sup>	
	10%DCM/Hx 溶出	25%DCM/Hx 溶出	第1画分	第2画分
2,2',4-TriBDE(#28)	75.4	95.1	77.8	0.2
2,2',4,4'-TeBDE(#47)	78.7	92.7	75.9	0.3
3,3',4,4'-TeBDE(#77)	81.6	90.4	75.6	0.7
2,2',4,4',6-PeBDE(#100)	113.6	106.5	110.9	0.7
2,2',4,4',5-PeBDE(#99)	99.3	108.4	106.4	0.8
3,3',4,4',5-PeBDE(#126)	104.7	104.6	91.3	1.0
2,2',4,4',5,6'-HxBDE(#154)	85.2	87.5	84.4	0.3
2,2',4,4',5,5'-HxBDE(#153)	92.7	90.9	85.5	3.2
3,3',4,4',5,5'-HxBDE(#169)	95.7	84.8	86.4	1.1
2,2',3,4,4',5',6-HpBDE(#183)	102.5	100.7	98.6	0.6
2,2',3,3',4,4',6,6'-OcBDE(#197)	111.6	95.8	112.7	0.5
2,3,3',4,4',5,5',6-OcBDE(#205)	99.1	87.6	101.0	3.2
2,2',3,3',4,4',5,6,6'-NoBDE(#207)	90.7	106.7	78.0	0.1
DeBDE	96.2	94.9	83.7	0.1
DBDPE	63.9	52.0	67.7	3.1

1) 10%ジクロロメタン/ヘキサン(DCM/Hx)で溶出させた場合と、25%ジクロロメタン/ヘキサン(DCM/Hx)で溶出させた場合の回収率

2) 第1画分はヘキサン 150 mL を溶出液とした画分、第2画分は第1画分を流した後に 60%ジクロロメタン/ヘキサン 200 mL で溶出した画分

表7 液-液分配法における PBDEs 異性体及び DBDPE の回収率 (%)

	DMSO 分配	アセトニトリル分配
2,2',4-TriBDE(#28)	88.6	88.2
2,2',4,4'-TeBDE(#47)	88.3	86.8
3,3',4,4'-TeBDE(#77)	92.5	88.2
2,2',4,4',6-PeBDE(#100)	97.7	92.3
2,2',4,4',5-PeBDE(#99)	100.8	94.4
3,3',4,4',5-PeBDE(#126)	106.9	92.9
2,2',4,4',5,6'-HxBDE(#154)	90.7	79.7
2,2',4,4',5,5'-HxBDE(#153)	97.2	83.5
3,3',4,4',5,5'-HxBDE(#169)	94.9	77.0
2,2',3,4,4',5',6-HpBDE(#183)	104.0	86.9
2,2',3,3',4,4',6,6'-OcBDE(#197)	91.1	90.7
2,3,3',4,4',5,5',6-OcBDE(#205)	85.4	93.4
2,2',3,3',4,4',5,6,6'-NoBDE(#207)	101.1	80.2
DeBDE	86.7	71.8
DBDPE	56.3	53.3

表8 スルホキシドカラムの回収率 (%)

	スルホキシドカラム溶出画分の回収率*		
	1	2	3
2, 2', 4-TriBDE (#28)	90.4	0.2	0
2, 2', 4, 4'-TeBDE (#47)	86.6	0.1	0
3, 3', 4, 4'-TeBDE (#77)	88.5	0.1	0
2, 2', 4, 4', 6-PeBDE (#100)	94.6	0.2	0
2, 2', 4, 4', 5-PeBDE (#99)	98.8	0.2	0
3, 3', 4, 4', 5-PeBDE (#126)	107.0	0.5	0
2, 2', 4, 4', 5, 6'-HxBDE (#154)	95.8	0.3	0
2, 2', 4, 4', 5, 5'-HxBDE (#153)	94.4	0.8	0
3, 3', 4, 4', 5, 5'-HxBDE (#169)	103.4	0.3	0
2, 2', 3, 4, 4', 5', 6-HpBDE (#183)	88.2	0.2	0
2, 2', 3, 3', 4, 4', 6, 6'-OcBDE (#197)	103.2	0.1	0
2, 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6-OcBDE (#205)	119.4	0.2	0
2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 6, 6'-NoBDE (#207)	102.9	0.2	0
DeBDE	101.0	0.1	0
DBDPE	40.2	0.1	0.1

\*溶出画分 1: 50%アセトン/ヘキサン 20 mL, 2: 50%アセトン/ヘキサン 10 mL  
3: 50%アセトン/ヘキサン 10 mL

表9 試料における異性体の回収率 (%)

	トータルダイエット試料							魚 タイ
	1群	2群	3群	4群	5群	6群	7群	
2, 2', 4-TriBDE (#28)	86.6	90.0	70.2	87.4	69.4	119.4	75.6	70.6
2, 2', 4, 4'-TeBDE (#47)	85.0	83.1	63.8	90.4	65.0	94.5	76.0	83.0
3, 3', 4, 4'-TeBDE (#77)	86.6	87.7	62.6	95.0	61.3	89.4	70.2	70.2
2, 2', 4, 4', 6-PeBDE (#100)	87.3	87.5	64.2	103.5	54.7	84.1	53.2	101.8
2, 2', 4, 4', 5-PeBDE (#99)	90.0	88.6	61.9	100.6	55.9	85.7	55.3	101.2
3, 3', 4, 4', 5-PeBDE (#126)	83.9	81.8	60.4	102.1	49.9	82.2	59.4	108.1
2, 2', 4, 4', 5, 6'-HxBDE (#154)	91.6	83.6	60.8	85.4	54.3	87.1	40.3	78.2
2, 2', 4, 4', 5, 5'-HxBDE (#153)	86.0	80.3	61.5	96.6	58.1	79.4	88.4	78.2
3, 3', 4, 4', 5, 5'-HxBDE (#169)	85.6	79.4	58.5	83.6	62.7	72.7	81.1	80.4
2, 2', 3, 4, 4', 5', 6-HpBDE (#183)	79.3	84.4	67.8	97.0	56.8	81.7	94.0	81.4
2, 2', 3, 3', 4, 4', 6, 6'-OcBDE (#197)	110.2	102.2	63.0	95.2	70.8	78.9	80.8	94.1
2, 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6-OcBDE (#205)	92.2	74.8	52.6	91.9	51.7	60.1	71.6	85.0
2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 6, 6'-NoBDE (#207)	95.0	90.0	65.0	93.0	58.9	84.2	77.7	84.9
DeBDE	79.1	74.9	51.0	79.0	53.3	63.8	95.0	74.6
DBDPE	57.4	48.8	44.0	57.3	40.1	46.8	69.9	60.5

### 3 ヘキサブロモシクロドデカン (HBCDs) 及びテトラプロモビスフェノール A (TBBPA) のマーケットバスケット試料の分析

九州地区で調製したマーケットバスケット試料 (2010 年分) について HBCDs 分析を行った。マーケットバスケット試料の第 1 群から 13 群まで分析を行った中で、魚介類試料第 10 群 A, B から主として  $\alpha$ 、 $\gamma$  の異性体が検出され、10 群以外のその他の食品群からは HBCDs は検出されなかった。第 10 群 A は 6.22 ng/g、第 10 群 B は 24.7ng/g、平均は 15.5 ng/g であった。2007 年調製した同地区の同群の試料中濃度は 1.19 及び 2.23、平均は 1.71 ng/g であったので、昨年度よりも、約 10 倍近く高値になっていた。他の地区のマーケットバスケット試料について、同様な変動があるか否かは、今後の調査で明らかにしたい。

今回の分析結果より算出した九州地区における HBCDs の一日摂取量を食品群別にまとめたものを表 10 に示した。一日摂取量は、ND=0 とした場合が 29.4 ng/kg/日、ND=1/2LOD とした場合が 30.5 ng/kg/日となり、ここでも、2007 年度結果よりも 10 倍近く高値であった。そこで、特に高濃度汚染を示した第 10 群 B 試料の構成食品 (-20°C で保存した検体) 18 試料について同様の HBCDs 分析を行った。結果は表 11 に示したように、石川県産のまさばに 61.9 ng/g の高濃度の汚染が明らかになった。これまでの我々の調査で、瀬戸内海産の生鮮魚介試料 (はたはた) に高い汚染 (77.3 ng/g) を検出しており、今回の結果はこれに近い数値である。前回の

高い汚染を示した試料は、検査対象数 65 試料中、稀な高濃度汚染試料であり、使用されている HBCD 難燃剤での主成分である  $\gamma$ -HBCD が他の異性体よりも優位に検出されたので、工場や廃棄処理施設に関連のある点汚染源の強い影響を受けた試料と考えた<sup>7)</sup>が、今回の高濃度検出食品まさばについても同様と思われる。構成食品 (一件は検体量が不足したため、測定を実施していない) 18 試料の分析値を基に計算した結果、若干の調理を加えホモジナイズされた今回のマーケットバスケット食品の汚染濃度の 21% を説明できたに留まった (図 7)。これはマーケットバスケット食品試料に実際に使用され、保存された残りの食品試料ではあったものの、最初に用いられたものと採取部位が同一でなかった可能性も否定できない。しかし、少なくとも、まさばが特に大きな寄与を示していることは明らかであると考えられた。今回の調査結果を踏まえると、本物質の環境での残留性や生物蓄積性が高いことから、HBCDs の使用が継続する限り、環境汚染や魚介食品汚染は避けられない。すでに我々は 2003-2008 年に市場で購入した生鮮魚介の HBCDs 分析値を報告している<sup>7)</sup>。そこでは日本人に高頻度で食される魚種の  $\Sigma$ HBCDs 濃度の中央値を基に、一日平均摂取量を 1.3-3.7 ng/kg/日と推定した。一方、Ueno らはカキとイガイの分析値から最小で 0.45 最大で 34 ng/kg/日と報告している<sup>8)</sup>。ちなみに外国では、スウェーデン、英国、オランダが、日本と同程度の摂取量を報告しているが同じヨーロッパでも、ノルウェー、ベルギーでの摂取レベルは、米国や

表 10 マーケットバスケット試料(九州地区 2010)における HBCD s の 1 日平均摂取量

	HBCD (ng/日)										
	ND=0					ND=1/2LOD					
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\Sigma$ HBCDs	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\Sigma$ HBCDs	$\alpha$	$\gamma$	$\Sigma$ HBCDs
第 1 群 (米類)	0	0	0	0.0	4.2	2.1	4.2	10.4			
第 2 群 (米以外の穀類)	0	0	0	0.0	2.2	1.1	2.2	5.6			
第 3 群 (砂糖・菓子類)	0	0	0	0.0	0.4	0.2	0.4	0.9			
第 4 群 (油脂類)	0	0	0	0.0	0.1	0.0	0.1	0.2			
第 5 群 (豆類)	0	0	0	0.0	0.6	0.3	0.6	1.5			
第 6 群 (果実類)	0	0	0	0.0	1.0	0.5	1.0	2.5			
第 7 群 (緑黄色野菜)	0	0	0	0.0	1.1	0.6	1.1	2.8			
第 8 群 (その他の野菜)	0	0	0	0.0	2.3	1.1	2.3	5.7			
第 9 群 (調味嗜好飲料)	0	0	0	0.0	6.9	3.4	6.9	17.1			
第 10 群 (魚介類) *	461.2	6.6	1000.6	1468.3	461.2	6.8	1000.6	1468.6			
第 11 群 (肉・卵類) *	0.0	0	0	0.0	1.5	0.7	1.5	3.7			
第 12 群 (乳類) *	0	0	0	0.0	1.1	0.5	1.1	2.7			
第 13 群 (調味料)	0	0	0	0.0	0.9	0.4	0.9	2.1			
各 HBCD 摂取量 ng/日	461.2	6.6	1000.6	1468.3	483.3	17.9	1022.7	1523.8			
$\Sigma$ HBCDs 推定摂取量 ng/kg 体重/日											30.5

\*1 日平均摂取量を算出する場合、第 10, 11, 12 群については各々平均摂取量を採用した。

$\alpha$ 、 $\gamma$ -HBCD の LOD 値は 0.02 ng/g、 $\beta$ -HBCD の LOD 値は 0.01 ng/g とした。

表 11 マーケットバスケット第 10 群 B 試料の構成食品中 HBCDs 濃度

	構成割合 (%)						ng/g						ng/g		HBCD 奇与率 (%)	
	$\alpha$ -HBCD	$\beta$ -HBCD	$\gamma$ -HBCD	$\Sigma$ HBCDs	$\gamma$ -HBCD	$\Sigma$ HBCDs	$\alpha$ -HBCD	$\beta$ -HBCD	$\gamma$ -HBCD	$\Sigma$ HBCDs	$\gamma$ -HBCD	$\Sigma$ HBCDs	ng/g	HBCD 奇与率 (%)		
さば	8.39	15.21	0.20	46.51	61.92	18.92										
まあじ	6.89	0.44	0.00	0.05	0.49	0.12										
さんま	3.08	0.99	0.03	0.37	1.39	0.16										
さけ	2.57	9.48	0.00	0.08	9.56	0.90										
まだい	7.84	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00										
かれい	1.40	0.28	0.00	0.09	0.37	0.02										
まぐろ	3.16	0.00	0.00	0.02	0.02	0.00										
ぶり	10.17	0.11	0.00	0.03	0.14	0.05										
さわら	2.86	1.19	0.02	1.33	2.54	0.26										
いさき	1.49	0.08	0.00	0.00	0.08	0.00										
あさり	3.10	0.04	0.00	0.05	0.09	0.01										
ほたて	0.88	0.06	0.00	0.04	0.10	0.00										
たこ	6.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00										
えび	8.65	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00										
塩さば	17.54	0.30	0.00	0.09	0.39	0.25										
まぐろ水煮	1.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00										
いりこ佃煮	0.12	—	—	—	—	—										
いわしのすり身	12.63	0.13	0.00	0.04	0.18	0.08										
魚肉ソーセージ	1.87	0.07	0.00	0.03	0.10	0.01										
総計	100.00					20.78										

—は十分な試料量が得られなかったため測定できなかつた。



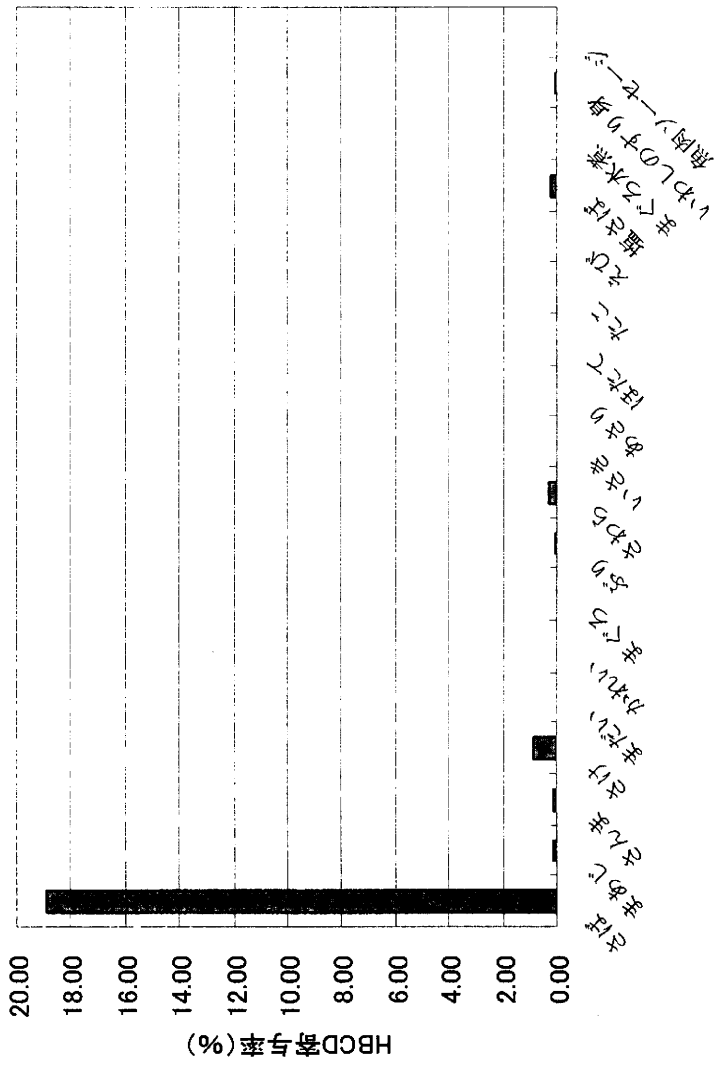


図7 第10群を構成する魚介食品のΣHBCDs 濃度

中国と同様に一桁低い<sup>7)</sup>。

今回の調査方法のマーケットバスケット法では、求められる摂取量は、今回の第10群A,Bの結果からも示唆されるように、一般に、試料調製時に選択した食品種や生育場所の影響が大きいといわれる。したがって、平均摂取量の把握には、地域や年度を変えて得られた可能な限り多くの分析結果から、その中央値の採用などによって推定する必要があると思われる。

今回の結果から得られた HBCDs の一日摂取量の、毒性学的リスク評価については以下ようになる。すなわち、動物試験の結果から日本では 10.2 mg/kg/日 が無毒性量 (NOAEL) とされている<sup>9)</sup>。HBCDs のヒトへの影響は、長期に亘って摂取するという仮定の下では安全係数 100 (動物種差 10×固体別差 10) で除した量 (耐容 1 日摂取量)<sup>10)</sup> と比較することが妥当と考えられており、HBCDs の場合は 102 μg/kg/日 と比較することとなる。今回得られた九州地区の摂取量である 29.4 ng/kg/日 (ND=0)、30.5 ng/kg/日 (ND=1/2LOD) は耐容 1 日摂取量の約 1/3300 から 1/3500 となり、ただちに健康に問題がある量ではないと考えられる。しかし、内分泌攪乱作用や肝薬物代謝酵素チトクローム p-450 の誘導についての報告もあることから<sup>11)-13)</sup>、今後も食品における汚染や摂取量の推移の観察は必須である。

## D 結論

1 DBDPE 及びその他の臭素系難燃剤の機器分析による測定条件の検討、前処理条

件の検討を行い、分析法の構築をした。

その結果、DBDPE は PBDEs と同時に前処理が可能であることがわかった。さらにこれまで PBDEs の分析で用いてきた食品成分の精製法である DMSO 分配に代用できる方法としてスルホキシドカラムが有用であることがわかった。測定機器については、DBDPE は HRGC/HRMS と GC/MS/MS で測定が可能と考えられたが、HRGC/HRMS の方が若干感度は安定していた。分析カラムは長さが短く、膜厚が薄いものがよいと思われた。

2 マーケットバスケット方式による九州地区における HBCDs の摂取量調査では、HBCDs は 29.4 ng/kg/日 (ND=0)、30.5 ng/kg/日 (ND=1/2LOD) であった。マーケットバスケット試料の分析から求めた摂取量には、試料調製時に選択した食品種や生育場所の影響が大きく現れることから、平均摂取量の把握には、ある程度の期間地域や年度を変えて観察する必要があると考えられる。

## E 研究発表

### 1 論文発表

・ Ashizuka, Y., Nakagawa, R., Yasutake, D., Shintani, Y., Hori, T., Horie, M., Tanaka, Y., Tsutsumi, T.: Daily Intake of Brominated Dioxins, Co-PCBs and Brominated Flame Retardants Estimated from Market Basket Study. BFR2010, 2010.

・ Nakagawa, R., Murata, S., Ashizuka, Y., Shintani, Y., Hori, T., Tsutsumi, T.: Hexabromocyclododecane determination in seafood samples collected from Japanese

coastal areas. *Chemosphere* 81 (2010) 445-452, 2010.

## 2 学会・協議会発表

・ Ashizuka, Y. , Nakagawa, R. , Yasutake, D. , Shintani, Y. , Hori, T. , Horie, M. , Tanaka, Y. , Tsutsumi, T. : Daily Intake of Brominated Dioxins, Co-PXBs and Brominated Flame Retardants Estimated from Market Basket Study. BFR2010, 2010.

・ 芦塚由紀, 中川礼子, 安武大輔, 新谷依子, 堀 就英, 堤 智昭: 臭素系ダイオキシン類及びその関連化合物質の分析. 第47回全国衛生化学技術協議会年会 (2010.11).

## 参考文献

- 1) Watanabe, K. , Senthilkumar, K. , Masunaga, S. , Takasuga, T. , Iseki, N. , Morita, M. : Brominated organic contaminants in the liver and egg of the common cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Japan. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 4071-4077, 2004.
- 2) Ishikawa, Y. , Nose, K. , Suzuki, G. , Takigami, H. , Noma, Y. , Sakai, S. : Quantitative analysis of poly-brominated biphenyls (PBBs) in Japanese waste samples. *Organohalogen Compounds*, 68, 1776-1779, 2004.
- 3) Ohta, S. , Tokusawa, H. , Magota, H. ,

Nakao, T. , Aozasa, O. , Miyata, H. , Ochiai, T. , Shimizu, Y. : Contamination levels of polychlorinated / brominated coplanar biphenyls (Co-PXBs) in the market foods and mother's milk of Japan. *Organohalogen Compounds*, 69, 2018-2021, 2007.

4) 厚生労働科学研究「ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究」平成21年度 研究報告書

5) 木下誠, 水落敏朗: GC/MS/MSによる臭素系難燃剤ポリ臭素化ジフェニルエーテルの分析法の検討, 福岡市保健環境研究所報 32号, 55-59, 2006.

6) 岩村幸美, 陣矢大助, 門上希和夫: スルホキシドカラムクリーンアップを用いた低質及び魚肉試料中ポリ臭素化ジフェニルエーテル類の分析, *環境化学*, 19, 527-535, 2009.

7) Nakagawa, R. , Murata, S. , Ashizuka, Y. , Shintani, Y. , Hori, , Tsutsumi, T. Hexabromocyclododecane determination in seafood samples collected from Japanese coastal areas.

*Chemosphere* 81 (2010) 445-452, 2010.

8) Ueno, D. , Isobe, T. , Ramu, K. , Tanabe, S. , Alae, M. , Marvin, C. , Inoue, K. , Someya, T. , Miyajima, T. , Kodama, H. , Nakata, H. : Spatial distribution of hexabromo cyclododecanes (HBCDs),

- polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and organochlorines in bivalves from Japanese coastal waters. *Chemosphere* 78, 1213-1219. 2010.
- 9) Ema, M., Fujii, S., Hirata-koizumi, M., Matsumoto, M.: Two generation reproductive toxicity study of the flame retardant hexabromocyclododecane in rats. *Reprod. Toxicol.* 25, 335-351, 2008.
- 10) NEDO事業における「初期リスク評価書」TDI（耐容一日摂取量）：  
<http://www.safe.nite.go.jp/risk.riskhykd01.html>.
- 11) Cantón, R. F., Peijnenburg, A. A. C. M., Hoogenboom, R. L. A. P., Piersma, A. H., van der Ven, L. T. M., van den Berg, Martin, Heneweer, M.: Subacute effects of hexabromocyclododecane (HBCD) on hepatic gene expression profiles in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 231, 267-272 2008.
- 12) van der Ven, L. T. M., Verhoef, A., van de Kuil, T., Slob, W., Leonards, P. E., Visser, T. J., Harmers, T., Herlin, M., Hakansson, H., Olausson, H., Piersma, A. H., Vos, J. G.: A 28-day oral dose toxicity study enhanced to detect endocrine effects of hexabromocyclododecane in Wistar rats. *Toxicol. Sci.* 94, 281-292, 2006.
- 13) Germers, T., Piersma, A. H., van der Ven, L., Kamyschnikow, A., Fery, Y., Schmitz, H. J., Schrenk, D.: Subacute effects of the brominated flame retardants hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A on hepatic cytochrome P450 levels in rats. *Toxicology* 218, 229-236, 2006.