

図7 総 PCBs 摂取量の経年変化 (1977-2013)

**各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究・研究報告書**

有害物質濃度実態調査の部

#### 研究要旨

ハロゲン系難燃剤による食品汚染実態を把握することを目的として、福岡県内で購入した魚介類試料について、臭素系難燃剤のヘキサブロモシクロドデカン(HBCD)及び塩素系難燃剤のデクロランプラス(DP)の分析を行った。

HBCDはホモジナイズ抽出し、LC-MS/MSにより測定を行った。その結果、魚介類20試料すべてから検出され、その湿重量当たりの濃度範囲は0.12 ng/g～22 ng/g(平均3.1 ng/g)であった。異性体別の濃度は $\alpha$ 体が0.12～16 ng/g、 $\beta$ 体がND～0.11 ng/g、 $\gamma$ 体がND～6.2 ng/gであった。濃度が高い試料について光学異性体分析を行った結果、光学異性体構成比は $\alpha$ 体で0.49～0.56、 $\gamma$ 体で0.50～0.55であり、光学異性体による明確な差異は見られなかった。

DP分析では高速溶媒抽出法(ASE)を用いて魚介類の抽出を行い、測定には高分解能ガスクロマトグラフ・質量分析計(HRGC/HRMS)を用いた。DPの*syn*体と*anti*体の2種類の異性体を対象に定量分析を行った結果、魚介類20試料中17試料からDPが検出された。得られた濃度値(湿重量あたり)は*syn*体がND～7.0 pg/g(平均2.2 pg/g)、*anti*体はND～13 pg/g(平均3.7 pg/g)であり、DPの*syn*体と*anti*体の濃度合計値(Total DP)の範囲はND～20 pg/g(平均5.9 pg/g)であった。DPの定量下限値は各異性体につき1 pg/g(湿重量あたり)であった。

#### 研究協力者

福岡県保健環境研究所

高橋浩司、堀 就英、宮脇 崇

公益財団法人北九州生活科学センター

山本貴光

#### A 研究目的

難燃剤は、プラスチック、ゴム、繊維等の高分子有機材料を難燃化するために広く使用されている。難燃剤には、ハロゲン系やリン系などの有機系難燃剤及び金属酸化物やアンチモン系などの無機系難燃剤があり、このうちハロゲン系難燃剤はその効率の良さからプラスチック製品の難燃剤とし

て幅広く使用されている。

ハロゲン系難燃剤のうち、臭素系難燃剤は、人体への影響や、より毒性が高い臭素系ダイオキシン類の発生等への懸念がある。そのため国内では1990年以降、臭素化ジフェニルエーテル類(PBDEs)の使用はメーカーの自主規制により減少している。しかし、環境中での残留性が高い高臭素化体のデカブロモジフェニルエーテル(DeBDE)や、生

物濃縮性が高いヘキサブロモシクロドデカン(HBCD)は現在も使用されており、さらにDeBDEの代替品としてデカブロモジフェニルエタン(DBDPE)が使用されている。

HBCDは、分子量641.7の臭素系化合物で、16の立体異性体があり、主な異性体は $\alpha$ 体、 $\beta$ 体及び $\gamma$ 体である(図1)。主に樹脂用及び繊維用の難燃剤として用いられており、平成23年度の製造・輸入数量の合計は約2,600トンである<sup>1)</sup>。HBCDは難燃剤として優れた性質を持つ一方、環境中での残留性や生物蓄積性を有することから、平成25年にストックホルム条約(POPs条約)の締結国会議において同条約付属書A(廃絶)に追加されることが決定され、日本においても化学物質審査規制法の第一種特定化学物質への指定が決定した。しかし、HBCDを使用した製品の廃棄が今後増加していくことから、環境や食品における汚染実態調査を継続的に行っていく必要がある。HBCDについてはこれまでの研究において国内3地区のマーケットバスケット方式による摂取量調査を行い、第10群(魚介類)のみから検出された<sup>2)3)4)</sup>。そのため、魚介類の個別試料を測定することで、食品汚染の実態を把握することができると考えられる。

一方、デクロランプラス(Dechlorane Plus、以下DP)は、分子量653.7の塩素系化合物である。化学名(IUPAC名)は1,2,3,4,7,8,9,10,13,13,14,14-dodecachloro-,4,4a,5,6,6a,7,10,10a,11,12,12a-dodecahydro-1,4:7,10-dimethanodibenzo[a,e]cycloocteneであり、*syn*体と*anti*体の二つの異性体が存

在する(図2)。

DPはPOPs条約で指定された塩素系難燃剤・マイレックス(Mirex)の代替製品として需要が増大傾向にあり、近年環境汚染物質として注目されている物質である。DPの水-オクタノール分配係数(log  $K_{ow}$ )の9.3<sup>5)</sup>は代表的なPCB異性体やダイオキシン類と同等の値であり、生物濃縮性の観点から注視が必要な物質である。食品中のDP濃度については、国内で柿本ら<sup>6)7)</sup>によって魚介類から検出した事例が報告されているが、食品汚染実態に関する十分なデータが得られていないのが現状である。

上記の現状に鑑み、本分担研究では臭素系難燃剤であるHBCD及び塩素系難燃剤であるDPについて、魚介類試料中の汚染実態調査を行った。

## B 研究方法

### 1 試料・試薬等

#### 1.1 試料

平成25年度に福岡県内の食料品店で購入した生鮮魚介類20試料(主に九州地区を産地とする)を調査対象とした(表1)。各々の可食部を採取し、細切・均一化したものを分析に用いた。

#### 1.2 標準物質

$\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -HBCD標準品、及び $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -<sup>13</sup>C<sub>12</sub>ラベル化HBCDはCambridge Isotope Laboratories社製を用いた。各異性体をメタノールで適宜希釈・混合して分析に用いた。

DP の標準溶液は、Wellington Laboratories 社製を使用した。DP の *syn* 体と *anti* 体の各々についてネイティブ体標準液と  $^{13}\text{C}$ -ラベル体標準液を購入し、これらをノナンで適宜希釈・混合して分析に用いた(表 2)。シリンジスパイクには、 $^{13}\text{C}$ -2,3,3',55'-pentaCB( $^{13}\text{C}$ -PCB111)を使用した。

DP 標準品は低温保存によって保存容器壁面へ吸着し、特に *anti* 体が溶液中の濃度低下を起ししやすいという報告<sup>8)</sup>があるため、購入後の標準原液や希釈調製した標準溶液及び最終試料(測定バイアル)は常時室温で保管し、実験に使用した。

### 1.3 試薬及び器材

アセトン、ヘキサン、ジクロロメタン、ノナン、メタノール、蒸留水(ヘキサン洗浄品)、無水硫酸ナトリウム及び塩化ナトリウムは関東化学社製のダイオキシン類分析用又は残留農薬・PCB 試験用を用いた。硫酸は和光純薬工業社製の有害金属測定用を使用した。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。珪藻土は International Sorbent Technology 社製の BULK ISOLUTE SORBENT HM-N を用いた。フロリジルカートリッジカラムは Waters 社製の Sep-pak Vac RC (500 mg) を使用した。スルホキシドカラムは Supelco 社製の Supelclean Sulfoxide(3 g) を用いた。

## 2 機器及び使用条件

### 2.1 液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)

HBCD 分析には LC-MS/MS(Waters 社製 2695 / Quattro Ultima Pt)を用いた。表 3 に示す条件により測定を行った。

### 2.2 高分解能ガスクロマトグラフ・質量分析計(HRGC-HRMS)

HRGC-HRMS は下記の 2 つのシステムを使用した。

システム 1 :

HRGC : Agilent 6890N(スプリットレス注入)-HRMS : Micromass AutoSpec Premier

システム 2 :

HRGC : Agilent 7890N(大量注入装置アイスティサイエンス社製 LVI-S200 付き)-HRMS : Micromass AutoSpec Premier

### 2.3 GPC 装置

GPC として、ポンプはジーエルサイエンス社製の PU 714、カラムオーブンはジーエルサイエンス社製の CO 705、検出器はジーエルサイエンス社製の GL-7452、分画装置は東京理化学器械社製の DC-1500 を使用した。プレカラム及び分離カラムは昭和電工社製 Shodex CLNpak EV-G AC 及び EV-2000 AC を用い、移動相はアセトン/シクロヘキサン(3:7, v/v)、流速 5 mL/min とした。

### 2.4 高速溶媒抽出装置

高速溶媒抽出(ASE)には DIONEX 社製の大容量型装置 ASE-350 を使用した。抽出条件は下記の通りであった。

セル温度 : 100°C、セル圧力 : 1500psi、加熱時間 : 5 分、静置時間 : 10 分、抽出サイクル数 : 2、抽出溶媒 : ヘキサン

### 3 実験操作

#### 3.1 HBCD の分析操作

図 3 に示す操作フローに従い、HBCD の分析を実施した。

試料約 5 g を秤取して精製水 5 mL を加え、 $^{13}\text{C}_{12}$ - $\alpha$ -、 $^{13}\text{C}_{12}$ - $\beta$ -及び $^{13}\text{C}_{12}$ - $\gamma$ -HBCD 各 1 ng を内部標準として添加した。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 分液ロートに移した。残渣は、メタノール 10 mL と 10% ジクロロメタン/ヘキサンの混液(以下 DCM/Hex)10 mL で再度ホモジナイズ抽出を行い、さらに 10% DCM/Hex 20 mL で抽出を行った。ろ紙をメタノール及び 10% DCM/Hex 各 10 mL で洗い、ろ液及び洗液を 300 mL 分液ロートに合わせ、あらかじめジクロロメタンで洗浄した 5% NaCl 水溶液 120 mL を加えて 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 で同様の液-液抽出及び脱水を 2 回行った。得られ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。そのうちの 2 mL を GPC 装置に注入し、粗脂肪溶出直後の HBCD 溶出画分(溶出時間 12.5 分~18.5 分)を採取して濃縮乾固した。残渣を少量のヘキサンに溶解し、パスツールピペットに 44%硫酸シリカゲルを 1 g 充填したミニカラムに負荷した。20%

DCM/Hex 8 mL で溶出し、窒素ガス吹付け乾燥した。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、自然乾燥後にメタノール 50  $\mu\text{L}$  を加えて溶解させ、LC-MS/MS で測定した。

#### 3.2 DP の分析操作

##### 3.2.1 DP 分析法の検討

分析法の予備検討として、①フロリジルカラム及びスルホキシドカラムにおける DP 標準品の溶出挙動の確認、②フロリジルカラムにおける魚由来成分の除去効果、について検討した。

①の検討では DP 標準品を固相カラムに負荷して溶媒で溶出し、標準品回収率を調べた。②ではマグロ抽出物をフロリジルカラムに負荷し、油状成分等のマトリックスが十分に取り除けるか調べた。

機器分析においては、HRGC-HRMS に DP 標準品を注入して、良好なピークが得られる測定条件(イオン化電圧、カラムオーブン温度等)を検討した。

##### 3.2.2 魚介類試料中の DP 分析

図 4 に示す操作フローに従い、DP の分析を実施した。

均一化した魚介類試料の約 10 g を 250 mL 容テフロン製遠沈管に秤量し、珪藻土約 20g を加えて混合した。混合物を ASE-350 用のステンレス製抽出セル(99 mL 容)に充填し、クリーンアップスパイク( $^{13}\text{C}$ -syn-DP 及び  $^{13}\text{C}$ -anti-DP の 2 成分を各 250 pg 相当)を添加し、2.3 項に示した条件

で抽出を行った。抽出液は 250 mL 容の捕集ボトルに回収し、2%塩化ナトリウム水溶液 50 mL を加えて緩やかに振り混ぜて抽出液を洗浄した。抽出液を 300 mL 容ナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレーターで約 10 mL になるまで濃縮した。

この濃縮液を、風袋を量った 100 mL 容ビーカーに移し、室温下で一夜静置して大部分の有機溶媒を揮散させた。その後、105°C に設定したアルミブロック上で 3 時間加熱し乾燥させた。放冷後重量を測定し、得られた抽出物(脂肪成分)の重量を求めた。

抽出物を少量のヘキサンで再溶解し、試験管内で硫酸と反応させ、脂肪成分や色素等の有機物を除去した(硫酸処理)。脂肪含量が 10%以上の 2 試料(No.5 及び 11)では、50 mL 容共栓遠沈管を用いて抽出液約 30 mL に対して硫酸 10 mL を添加し、一夜静置した。脂肪含量が 10%に満たない試料においては、10 mL 容共栓スピッツ管を用い、抽出液約 6 mL に対して硫酸 2 mL で処理を行った。硫酸処理は有機層の着色が無くなるまで繰り返して行った。

硫酸処理後のヘキサン層に対して減圧濃縮や窒素ガス気流による濃縮を行い、最終的に 10 mL 容先細型スピッツ管内で全量約 1 mL に調製した。ここに蒸留水(ヘキサン洗浄品)をパスツールピペットで数滴加え、試験管ミキサーで緩やかに混和してヘキサン層を洗浄した。次に 2,500 rpm で 10 分間遠心分離を行い、得られた上清(ヘキサン層)をフロリジルカラムによる精製操作に供した。

フロリジル精製は先山らの方法<sup>8)</sup>を参考に行った。あらかじめヘキサン 10 mL でコンディショニングしたカラムに上記のヘキサン層を負荷し、5%ジクロロメタン/ヘキサン 7 mL で溶出した。得られた溶出液を窒素ガス気流で穏やかに濃縮し、濃縮液を測定バイアルに移し、シリンジスパイク(<sup>13</sup>C-PCB111 を 125 pg 相当)を添加した。ノナンで全量を約 50 µL としたものを最終検液とし、このうち 2 µL を HRGC-HRMS(2.2 項に記載したシステム 1)に注入して測定した。定量下限値は、*syn* 体及び *anti* 体ともに湿重量あたり 1 pg/g であった。

### 3.3 DP 標準品の添加回収試験

魚介類 20 試料と同じ分析フロー(図 4)に従い、エビ均一化試料を用いて DP の添加回収試験を行った(n=4)。試料 10 g に DP 標準物質(*syn*-DP 及び *anti*-DP の 2 成分を各 2 ng 相当)を添加し ASE で抽出した。抽出液の精製は 3.2 項と同様に行い、最終測定試料にクリーンアップスパイク(<sup>13</sup>C-*syn*-DP 及び <sup>13</sup>C-*anti*-DP の 2 成分を各 2 ng 相当)を添加して測定した。ネイティブ体とラベル体のピーク面積比より前者の添加回収率を算出した。

## C 研究結果及び考察

### 1 HBCD の実態調査結果

#### 1.1 市販魚介類試料中の HBCD 濃度

魚介類 20 試料の HBCD の分析結果を表 4 に示す。HBCD は 20 試料すべてから検出され、その湿重量当たりの濃度範囲は 0.12 ng/g~22 ng/g(平均 3.1 ng/g)であった。異性

体別では、 $\alpha$  体は 20 試料全てから検出されたが、 $\beta$  体は 20 試料中 6 試料、 $\gamma$  体は 20 試料中 11 試料から検出され、濃度範囲は  $\alpha$  体が 0.12~16 ng/g(平均 2.4 ng/g)、 $\beta$  体が ND~0.11 ng/g(ND=0 としたときの平均 0.01 ng/g)、 $\gamma$  体が 0.02~6.2 ng/g(ND=0 としたときの平均 0.65 ng/g)であった。魚介中の HBCD 異性体の濃度割合は、 $\alpha$  体 >  $\gamma$  体 >  $\beta$  体であり、これまでの報告<sup>9)</sup>と同様の傾向であった。

各試料の HBCD の濃度を図 5 に、異性体の割合を図 6 に示す。魚種別に見ると、HBCD 濃度はマグロ及びブリで高い傾向が見られ、サバは 2 検体中 1 検体が高い濃度であった。また、異性体については、マグロの  $\gamma$  体の割合が他の魚種に比べて高い傾向を示していた。今回の分析では魚種あたりの検体数が 1~4 検体と少ないため、魚種ごとの異性体別濃度の傾向を詳細に把握するためにはさらに検体数を増やして分析する必要がある。

HBCD 濃度について魚介類の脂肪含量との関連を調べた。その結果を図 7 に示す。全 20 試料の湿重量あたりの Total HBCD 濃度に対する各試料の脂肪含量(%)との間には相関が見られた( $r^2=0.529$ )。

## 1.2 HBCD の光学異性体分析

今回分析した試料のうち、各異性体の濃度が 1 ng/g 以上の試料(6 試料)について、光学異性体を測定した。Janák らの方法<sup>10)</sup>を参考にし、キラルカラム(Marcherey- Nagel 社製 Nucleodex  $\beta$ -PM(4.0×200 mm i.d., 5

$\mu$ m))を用いて LC-MS/MS による測定を行った。光学異性体構成比(EF)は、ピーク面積(A)から次式により計算した。

$$EF = \frac{(+A)}{(-)A + (+)A}$$

測定結果を表 5 に示す。今回分析した試料(サバ 1 検体、ブリ 3 検体、マグロ 2 検体)について、EF 値は  $\alpha$  体で 0.49~0.56、 $\gamma$  体で 0.50~0.55 であり、光学異性体による明確な差異は見られなかった。

## 2 DP の分析調査

### 2.1 DP 分析条件の検討

これまでに水質<sup>11)~13)</sup>や大気<sup>11),14)</sup>、土壌<sup>15)</sup>、底質<sup>13),16),17)</sup>等の環境試料、ハウスダスト<sup>8),18)</sup>、生物試料<sup>12),19)</sup>等から DP を検出した事例が報告されている。DP の抽出方法としては、主に液-液分配抽出、ソックスレー抽出、固-液抽出や加圧流体抽出(PFE)<sup>20)</sup>等が用いられている。本研究では、抽出効率が高く、操作を迅速に行うことが可能な ASE を用いて分析を実施した。抽出溶媒には魚試料に対して適用事例があるヘキサン<sup>21)</sup>を使用した。魚均一化試料(表 1)を珪藻土粉末と混合して抽出を行ったところ、全ての魚介類試料でエマルジョンの形成は認められず、均質性の高い抽出液を得ることができた。

固相カートリッジカラム(フロリジルカラム及びスルホキンドカラム)における標準品回収率を調べた。ヘキサン 1mL を試験管に取り、クリーンアップスパイク(<sup>13</sup>C-*syn*-DP 及び <sup>13</sup>C-*anti*-DP の 2 成分を各 2



ng 相当)を添加し、この溶液を固相に負荷して溶媒で溶出し、測定した(n=3)。結果として、両固相カラムからの標準品の回収性は良好であった(表 6)。今年度の魚試料の分析にスルホキシドカラムは使用しなかったが、DP 分析における精製方法の選択肢のひとつとして、フロリジルカラムとともに DP の溶出挙動を把握することができた。

魚介類全 20 試料の分析に先立ち、フロリジルカラムにおける魚抽出物の精製効果を調べた。魚介類 20 試料の中で最も脂肪含量が高かった魚試料 No.11(マグロ)10 g を用い、図 4 の分析フローに従い調製した抽出液をフロリジルカラムで精製して、溶出液を濃縮乾固したところ、油状成分の残存はほとんど認められなかった。この結果から、フロリジルカラムを用いて魚 10 g 相当量のマトリックス成分をほぼ除去できることが分かった。

HRGC-HRMS は先山らの報告<sup>8)</sup>に従い初期条件を設定した。DP 混合標準溶液(1 ng/mL)を繰り返し測定し、良好なピーク形状と感度が得られる条件を検討した(表 7)。DP 混合標準溶液の測定クロマトグラムを図 8 に示した。測定の結果、標準物質の分解や容器への吸着による異性体比率の変化等の現象は認められなかった。

## 2.2 DP 標準品の添加回収試験結果

エビ均一化試料を用いて標準品の添加回収試験(n=4)を行ったところ、*syn*-DP 及び *anti*-DP の回収率は、それぞれ 96~101% 及び 92~95% の範囲となり、良好であった(表

8)。

## 2.3 市販魚介類試料中の DP 濃度

魚介類中の DP 分析クロマトグラムの一例を図 9 に示す。クロマトグラム上に著しい妨害ピークの出現は認められなかった。

魚介類 20 試料の分析結果を表 9 に示す。DP は 20 試料中 17 試料から検出され、これら 17 試料のうち 2 試料では *syn* 体は定量限界値未満(ND)であり、*anti* 体のみが定量下限値(1.0 pg/g)以上の濃度で検出された。

全 20 試料の検出濃度範囲は *syn* 体が ND ~7.0 pg/g(平均 2.2 pg/g)、*anti* 体は ND~13 pg/g(平均 3.7 pg/g)であった。DP の *syn* 体と *anti* 体の濃度合計値(Total DP)の範囲は ND ~20 pg/g(平均 5.9 pg/g)であった。

我が国における DP 濃度の実態調査事例として、柿本らが食用魚介類 20 種類の分析を行い、ND(< 0.2 pg/g)~14.2 pg/g の結果を得ている<sup>9)</sup>。魚種や試料採取地が異なるが、本研究で得られた結果は柿本らの調査結果と近似した値であった。

全 20 試料の湿重量あたりの Total DP 濃度に対する各試料の脂肪含量(%)との間には、弱い相関が認められた( $r^2=0.212$ )。

水質や土壌等の環境媒体から DP を検出したこれまでの報告では、環境動態の観点から、異性体の *syn* 体と *anti* 体の濃度比を求め、両者の残留傾向が比較されている。今回分析を行った魚介類 20 試料のうち、*syn* 体と *anti* 体の双方が検出された 15 試料について Total DP 濃度に対する *anti* 体濃度の比率( $f_{anti}$ )を算出したところ、 $f_{anti}$  値の範囲

は 0.58~0.65(平均 : 0.62)であった(表 9)。米国で工業生産されている DP 製品の  $f_{anti}$  値は 0.64~0.85、中国で生産される製品の分析事例では 0.59~0.60 と報告されている<sup>8)22)23)</sup>。本研究の魚介類 15 試料の  $f_{anti}$  値は、中国製品に近い値を示し、柿本らによる魚介類 12 試料における報告(範囲 : 0.56~0.72、平均 : 0.62)と近い値であった<sup>6)</sup>。一方、国内における屋外沈着物(0.81~0.85)、土壌(0.81)、底質(0.77~0.84)等と比較して低い傾向が認められた<sup>8)</sup>。

魚介類試料中の DP 分析で今後検討を要する課題として、検出感度の向上が挙げられる。本研究における DP の定量下限値(湿重量あたり)は 1 pg/g であり、柿本らによる報告にある定量下限値 0.2 pg/g には及ばない<sup>6)</sup>。定量下限の向上のため、現在大量注入装置を取り付けた HRGC-HRMS(2.2.1 項のシステム 2)を用いて DP を高感度に検出できる機器条件の検討を行っている。

また、HRGC-HRMS で一連の魚介類試料を分析する前後に標準溶液の測定を行ったところ、クリーンアップスパイクに対するシリンジスパイクの相対感度係数(RRFss)が最大で 6 倍程度変動していることが分かった。原因は明らかでないが、魚試料中のマトリックス成分が機器に影響を与えた可能性が考えられる。RRFss 値の変動は回収率の評価に影響を与えるため、スルホキシドカラム等を用いて試料の追加精製を行った場合、RRFss 値の変動が改善するか検討する予定である。また本研究ではシリンジスパイクに <sup>13</sup>C-PCB111 を用いたが、

HRGC-HRMS における感度変動が起きにくく DP と保持時間の近い PCB 異性体に変更することも別途検討する計画である。

#### D 結論

魚介類中の HBCD 濃度の実態調査では、測定した 20 試料すべてから HBCD が検出され、その湿重量当たりの濃度範囲は 0.12 ng/g~22 ng/g(平均 3.1 ng/g)であり、魚種別ではマグロやブリで濃度が高い傾向があり、脂肪含量との相関が見られた。光学異性体分析を行った結果からは、各異性体の濃度比について、試料間での明確な差異は見られなかった。HBCD の生産量は今後減少すると考えられるが、環境への放出は長期間続くと予想される。本研究で得られた実態調査結果からは、現時点でも魚介類の汚染頻度が高いことが示唆されており、従って、今後も魚介類を中心とした調査を継続して行う必要がある。

魚介類中の DP 分析においては、抽出操作に ASE を、機器分析には HRGC-HRMS を用いて DP の *syn* 体と *anti* 体を分離定量した。エビ均一化試料を用いて行った標準品添加回収実験の結果は良好であり、湿重量あたりの定量下限値は各異性体で 1 pg/g であった。今回の調査では、魚介類 20 試料のうち 17 試料から DP が検出され、Total DP の濃度範囲は ND~20 pg/g(平均 : 5.9 pg/g)であった。今後も、魚介類を中心に調査データの蓄積・拡充を図り、汚染実態を把握するとともに、トータルダイエツト試料等の分析等を通じ、喫食に由来する摂取量の把握が必要と考えられる。

## E 参考文献

- 1) 経済産業省「化審法の施行状況(平成 24 年)」。 [http://www.meti.go.jp/policy/chemical\\_management/kasinhou/files/information/sekou/sekou\\_h24.pdf](http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/files/information/sekou/sekou_h24.pdf).
- 2) 平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業「食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発に関する研究 食品における有機臭素系化合物の汚染調査」研究分担報告書。
- 3) 平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業「食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発に関する研究 食品における有機臭素系化合物の汚染調査」研究分担報告書。
- 4) 平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業「食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発に関する研究 食品における有機臭素系化合物の汚染調査研究」研究分担報告書。
- 5) 米国 EPA ホームページ資料: <http://www.epa.gov/HPV/pubs/summaries/dechlorp/c15635tp.pdf>.
- 6) 柿本健作、永吉晴奈、山口貴弘、吉田仁、安達史恵、高木総吉、小西良昌 食用魚中の塩素系難燃剤デクロランプラス。第 21 回環境化学討論会講演要旨集、633-634。
- 7) Kakimoto K, Nagayoshi H, Takagi S, Akutsu K, Konishi Y, Kajimura K, Toriba A, Hayakawa K. Intake assessment of Dechlorane Plus and polybrominated diphenyl ethers via inhalation and diet in Japan. *Organohalogen Compounds* (2013) 75, 157-160.
- 8) 先山孝則、中野武 高分解能 GC/MS 法を用いる環境中の塩素系難燃剤 Dechlorane Plus の分析。分析化学、第 60 号、(2012)745-754。
- 9) Nakagawa R, Murata S, Ashizuka Y, Shintani Y, Hori T, Tsutsumi T. Hexabromocyclododecane determination in seafood samples collected from Japanese coastal areas. *Chemosphere* (2010) 81, 445-452.
- 10) Janák K, Covaci A, Voorspoels S, Becher G. Hexabromocyclododecane in marine species from the Western Scheldt Estuary: diastereoisomer- and enantiomer-specific accumulation. *Environ Sci. Technol.* (2005) 39, 1987-1994.
- 11) Moller A, Xie Z, Sturm R, Ebinghaus R. Large-scale distribution of Dechlorane Plus in air and seawater from the Arctic to Antarctica. *Environ. Sci. Technol.* (2010) 44, 8977-8982.
- 12) Jia H, Sun Y, Liu X, Yang M, Wang D, Qi H, Shen L, Sverko E, Reiner E.J., Li Y.F. Concentration and bioaccumulation of Dechlorane compounds in coastal environment of northern China. *Environ. Sci. Technol.* (2011) 45, 2613-2618.
- 13) Qi H, Liu L, Jia H, Li Y.F., Ren N.Q., You H, Shi X, Fan L, Ding Y. Dechlorane Plus in

- surficial water and sediment in a northeastern Chinese river. *Environ. Sci. Technol.* (2010) 44, 2305-2308.
- 14) Ben N, Sverko E, Li Y.F., Zhang Z, Harner T, Wang D, Wan X, Mccarry B.E. Levels and isomer profiles of Dechlorane Plus in Chinese Air. *Environ. Sci. Technol.* (2008) 42, 6476-6480.
- 15) Yu Z, Lu S, Gao S, Wang J, Li H, Zeng X, Sheng G, Fu J. Levels and isomer profiles of Dechlorane Plus in the surface soils from e-waste recycling areas and industrial areas in South China. *Environmental Pollution* (2010) 158, 2920-2925.
- 16) Qiu X, Marvin C.H., Hites R.A. Dechlorane Plus and other flame retardants in a sediment core from Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* (2007) 41, 6014-6019.
- 17) Sverko E, Tomy G.T., Marvin C.H., Zaruk D, Reiner E, Helm P.A., Hill B, Mccarry B.E. Dechlorane Plus levels in sediment of the lower Great Lakes. *Environ. Sci. Technol.* (2008) 42, 361-366.
- 18) Zhu J, Feng Y.L., Shoeib M, Detection of Dechlorane Plus in residential indoor dust in the city of Ottawa, Canada. *Sci. Technol.* (2007) 41, 7694-7698.
- 19) Gauthier L.T., Letcher R.J. Isomers of Dechlorane Plus flame retardant in the eggs of herring gulls (*Larus argentatus*) from the Laurentian Great Lakes of North America: Temporal changes and spatial distribution. *Chemosphere* (2009) 75, 115-120.
- 20) Tomy G.T., Pleskach K, Ismail N, Whittle D.M., Helm P.A., Sverko E, Zaruk D, Marvin C.H. Isomers of Dechlorane Plus in Lake Winnipeg and Lake Ontario food webs. *Environ. Sci. Technol.* (2007) 41, 2249-2254.
- 21) Shen L, Reiner E.J., Macpherson K.A., Kolic, T.M., Sverko E, Helm P.A., Bhavsar S.P., Brindleid I.D., Marvin C.H. Identification and screening analysis of halogenated norbornene flame retardants in the Laurentian Great Lakes: Dechloranes 602, 603, and 604. *Environ. Sci. Technol.* (2010) 44, 760-766.
- 22) Hoh E, Zhu L, Hites R.A. Dechlorane Plus, a chlorinated flame retardant, in the Great Lakes. *Environ. Sci. Technol.* (2006) 40, 1184-1189.
- 23) Wang D.G., Yang M, Qi H, Sverko E, Ma W.L., Li Y.F., Alae M, Reiner E.J., Shen L. An Asia-specific source of Dechlorane Plus: concentration, isomer profiles, and other related compounds. *Environ. Sci. Technol.* (2010) 44, 6608-6613.

## F. 研究業績

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) Takahashi K, Nakagawa R, Kajiwara J, Ashizuka Y, Yasutake D, Watanabe T, Tsutsumi T, Matsuda R. Determination of brominated flame retardants in food samples of Japan. The 33rd International

Symposium on Halogenated Persistent  
Organic Pollutants (2013.8).

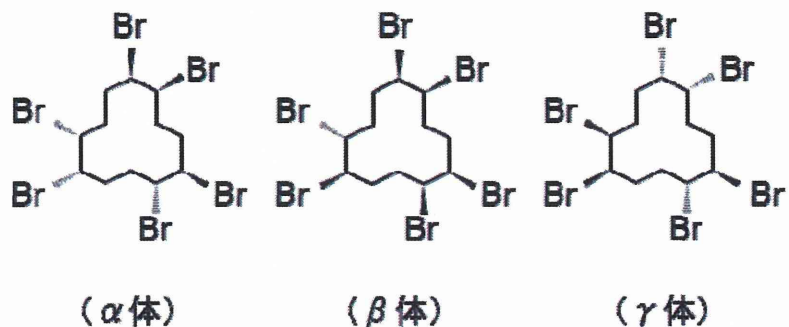


図1 ヘキサブロモシクロドデカン(HBCD)の化学構造

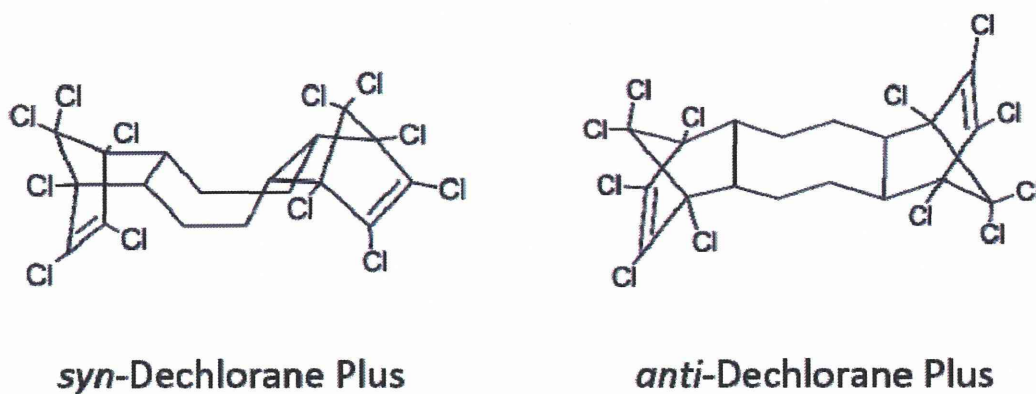


図2 デクロランプラス(DP)の化学構造

表1 分析に用いた魚介類試料

No	サンプル名	産地	No	サンプル名	産地
1	イワシ	中国・四国地方	11	マグロ1	九州地方
2	サバ1	九州地方	12	マグロ2	九州地方
3	サバ2	九州地方	13	アジ1	九州地方
4	ブリ1	九州地方	14	アジ2	九州地方
5	ブリ2	九州地方	15	アジ3	九州地方
6	ブリ3	中国・四国地方	16	アジ4	九州地方
7	スズキ1	九州地方	17	タラ	東北地方
8	スズキ2	九州地方	18	タチウオ	九州地方
9	タイ1	中国・四国地方	19	ヤズ	九州地方
10	タイ2	九州地方	20	カンパチ	九州地方

表 2 DP 標準溶液の組成と濃度

	相対感度係数 測定用溶液1 (ng/mL)	相対感度係数 測定用溶液2 (ng/mL)	クリーンアップス パイク用溶液 (ng/mL)	シリンジスパイク 用溶液1 (ng/mL)	シリンジスパイク 用溶液2 (ng/mL)
ネイティブ体					
<i>syn</i> -Dechlorane Plus	10	1	-	-	-
<i>anti</i> -Dechlorane Plus	10	1	-	-	-
ラベル体					
<sup>13</sup> C- <i>syn</i> -Dechlorane Plus	10	1	10	-	-
<sup>13</sup> C- <i>anti</i> -Dechlorane Plus	10	1	10	-	-
<sup>13</sup> C-2,3,3',5,5'-pentaCB	10	1	-	50	5

表 3 LC-MS/MS による HBCD の分析条件

カラム	①GL Sciences 社製 Intertsil ODS-4 (150 × 2.1 mm i.d., 5 μm) ②Marcherey-Nagel 社製 Nucleodex -PM (200 × 4.0 mm i.d., 5 μm)
カラム温度	40°C
注入量	5 μL
移動相	①10 mM 酢酸アンモニウム:メタノール:アセトニトリル=20:50:30(2分) ~0:70:30(7-13分)~20:50:30(14-20分) ②2 mM 酢酸アンモニウム入りメタノール/水(1:1):メタノール/アセトニトリル (3:7)=50:50(0分)~0:100(4.5-10分)~50:50(16-20分)
移動相流量	①0.2 mL/min ②0.3 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	120°C
モニターイオン	Native-HBCD; 641>79 (定量)、639>79 (確認) <sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HBCD; 653>79 (定量)、651>79 (確認)

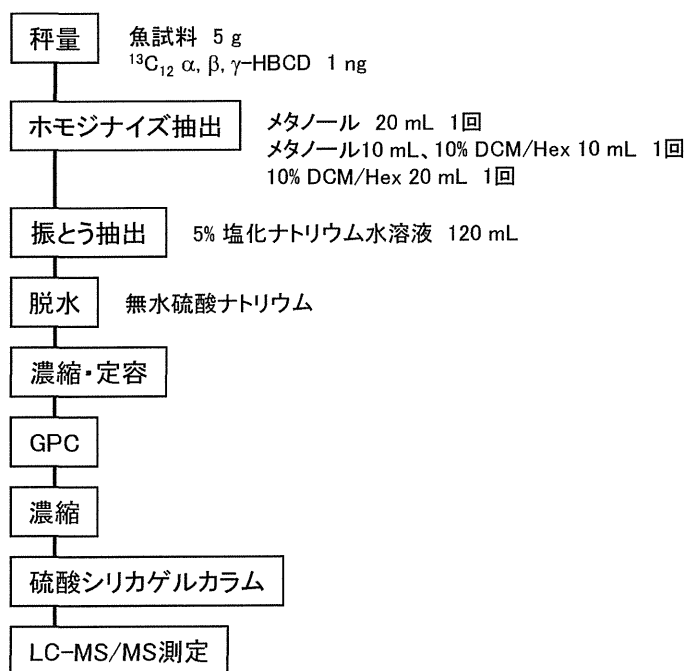


図3 魚試料中の HBCD 分析フロー

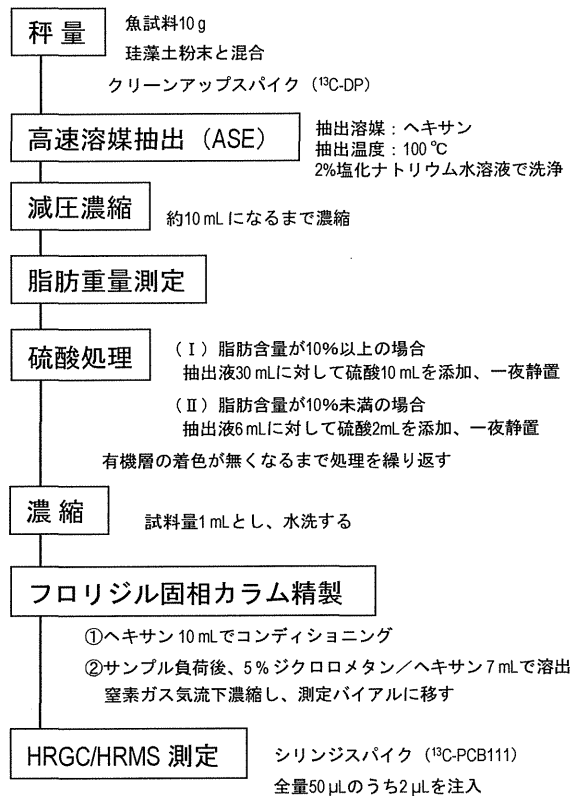


図4 魚試料中の DP 分析フロー



表4 魚介類試料中のHBCD分析結果

No.	サンプル名	産地	脂肪含量 (%)	濃度(ng/g、湿重量あたり)			
				$\alpha$ -HBCD	$\beta$ -HBCD	$\gamma$ -HBCD	Total HBCD
1	イワシ	中国・四国地方	1.3	0.33	ND	0.02	0.35
2	サバ1	九州地方	3.8	0.60	0.01	0.06	0.67
3	サバ2	九州地方	4.1	14	0.11	5.2	19
4	ブリ1	九州地方	3.5	4.2	ND	0.02	4.2
5	ブリ2	九州地方	11	3.5	0.02	0.15	3.7
6	ブリ3	中国・四国地方	1.7	2.9	0.01	0.15	3.1
7	スズキ1	九州地方	0.54	0.22	ND	0.02	0.24
8	スズキ2	九州地方	0.41	0.62	ND	0.04	0.66
9	タイ1	中国・四国地方	5.0	0.34	ND	ND	0.35
10	タイ2	九州地方	0.96	0.13	ND	ND	0.13
11	マグロ1	九州地方	18	16	0.10	6.2	22
12	マグロ2	九州地方	2.8	3.3	0.02	1.1	4.4
13	アジ1	九州地方	0.39	0.12	ND	ND	0.12
14	アジ2	九州地方	0.11	0.20	ND	ND	0.20
15	アジ3	九州地方	0.32	0.23	ND	ND	0.23
16	アジ4	九州地方	1.4	0.70	ND	ND	0.70
17	タラ	東北地方	0.078	0.18	ND	ND	0.18
18	タチウオ	九州地方	2.9	0.21	ND	0.02	0.23
19	ヤズ	九州地方	0.14	0.42	ND	ND	0.42
20	カンパチ	九州地方	0.029	0.13	ND	ND	0.13

ND:  $\alpha$ -HBCD 0.02ng/g 未満、 $\beta$ -HBCD 0.01ng/g 未満、 $\gamma$ -HBCD 0.02ng/g 未満

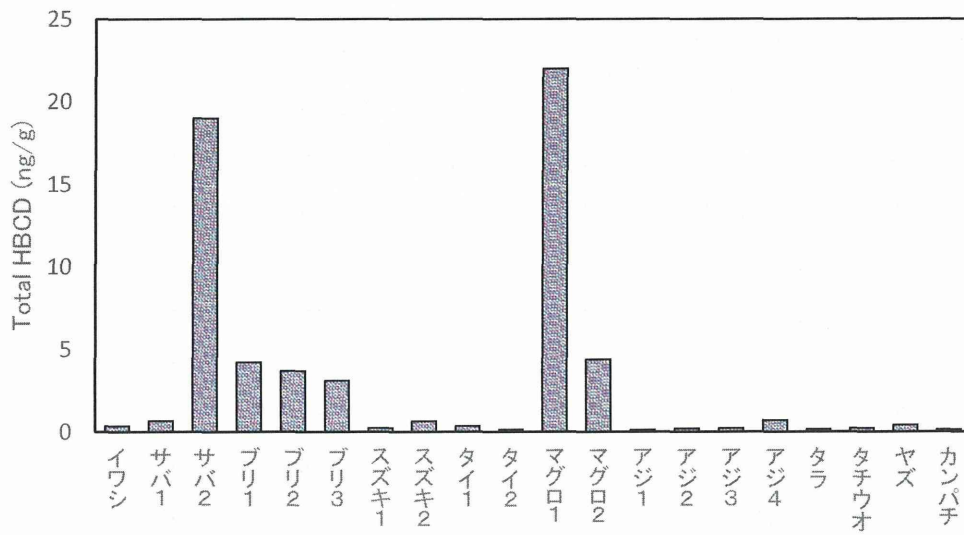


図5 魚介類試料中の HBCD 濃度

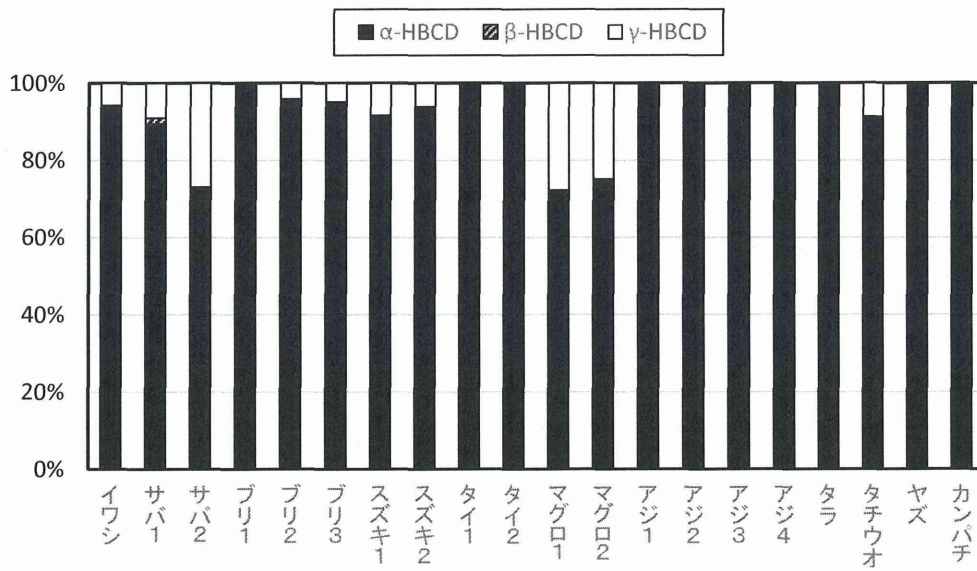


図6 魚介類試料中の HBCD 異性体の割合

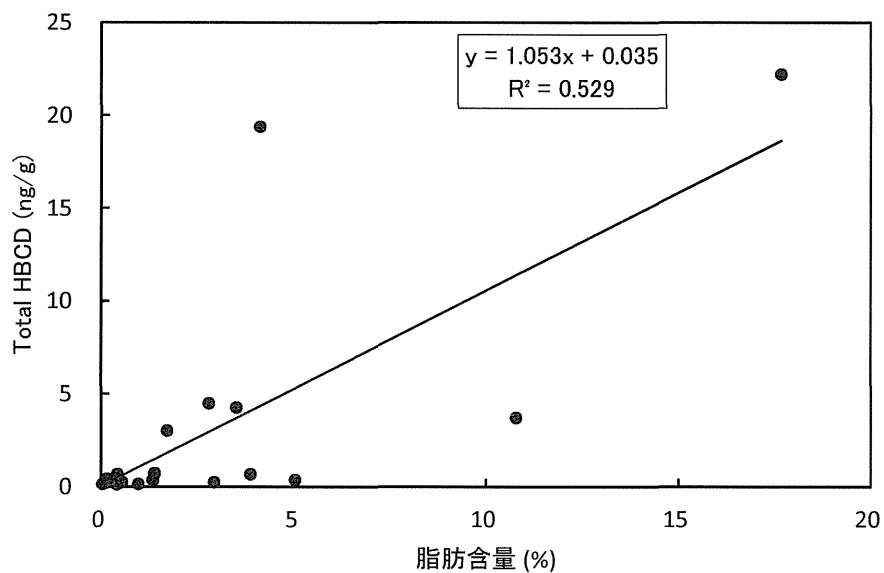


図7 魚介類試料の脂肪含量と HBCD 濃度との相関

表5 魚介類試料中の HBCD の光学異性体比

No.	サンプル名	産地	α-HBCD		γ-HBCD	
			濃度 (ng/g)	EF	濃度 (ng/g)	EF
3	サバ2	九州地方	14	0.51	5.2	0.50
4	ブリ1	九州地方	4.2	0.49	0.02	—*
5	ブリ2	九州地方	3.5	0.50	0.15	—
6	ブリ3	中国・四国地方	2.9	0.51	0.15	—
11	マグロ1	九州地方	16	0.50	6.2	0.55
12	マグロ2	九州地方	3.3	0.56	1.1	0.55

\* 濃度が低いため測定不能

表6 固相カラムにおける DP 標準品の回収率. a) フロリジルカラム、  
b) スルホキシドカラム

	回収率 (%)			回収率 (%)	
	<i>syn</i> -DP	<i>anti</i> -DP		<i>syn</i> -DP	<i>anti</i> -DP
1回目	113	119	1回目	100	102
2回目	103	108	2回目	92	96
3回目	115	122	3回目	84	88
平均	110	116	平均	92	95

表7 DP 分析における HRGC/HRMS 測定条件

GC条件	
カラム	HT8-PCB (関東化学、0.25mm × 60m)
インジェクションモード (注入量)	スプリットレス (2 μL)
インジェクター温度	290°C
キャリアーガス (流量)	ヘリウム (1.0 mL/min)
オープン温度	130°C (2min保持) - 20°C/min - 340°C (17.5min保持)
MS条件	
イオン化法	EI
イオン源温度	290°C
分解能	10000以上
モニターイオン	ネイティブ体: 271.8102、273.8072 ラベル体: 276.8269、278.8240 シリンジスパイク: 337.9207、339.9626 ロックマス (PFK): 292.9824

表8 エビ試料を用いた DP 標準品の添加回収実験結果

	回収率 (%)	
	<i>syn</i> -DP	<i>anti</i> -DP
1回目	98	94
2回目	96	93
3回目	101	92
4回目	100	93
平均	99	93