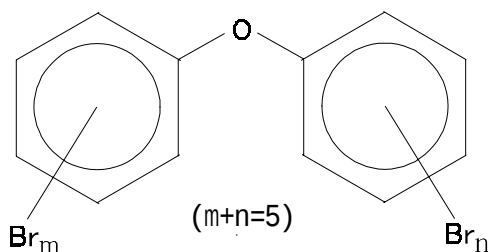


ペンタブロモジフェニルエーテル

【対象物質及び構造式】



$C_{12}H_5OBr_5$ Pentabromodiphenylether(CAS No.:32534-81-9)

【物理化学的性状及び用途】

分子量：564.69

融点：-7～-3（市販品） 沸点：>200 蒸気圧： 4.69×10^{-5} mmHg(20)

水溶解度：13.3 μ g / L Log Kow：6.58

用途：防炎剤として家電製品等のプラスチックカバー、プリント基板に添加

§1 分 析 法

本分析法では、底質及び生物試料をアセトン抽出後、室温アルカリ分解及び硫酸洗浄を行い、Gel Permeation Chromatography(GPC)及びシリカゲル（生物試料はフロリジル）カートリッジカラムでクリーンアップし、ガスクロマトグラフ高分解能質量分析装置（GC/HRMS-SIM）を用いて定量する。ポリ塩化ビフェニル（PCBs）、ポリ塩化ナフタレン（PCNs）、ポリ塩化ターフェニル(PCTs)及びヘキサブロモビフェニルとの同時分析も可能である。

【試薬・器具】

使用する試薬・器具類の例を以下に示す。

〔試薬〕

・ネイティブ - ペンタブロモジフェニルエーテル：

2,2',3,4,4'-PentaBDE	#85
2,2',4,4',5-PentaBDE	#99
2,2',4,4',6-PentaBDE	#100
2,3,4,5,6-PentaBDE	#116
2,3',4,4',5-PentaBDE	#118

2,3',4,4'6-PentaBDE #119

3,3',4,4',5-PentaBDE #126

以上 Cambridge Isotope Laboratories, Inc. 社製。

2,2',3,4,6-PentaBDE #88

2,2',4,5,6'-PentaBDE #102

2,2',4,5',6-PentaBDE #103

2,3,3',4,4'-PentaBDE #105

2,3,3',4,5-PentaBDE #106

以上 AccuStandard 社製。

・ サロゲート物質 ($^{13}\text{C}_{12}$ 標識ペンタブロモジフェニルエーテル) :

2,2',4,4',5-PentaBDE- $^{13}\text{C}_{12}$ #99

2,2',4,4',6-PentaBDE- $^{13}\text{C}_{12}$ #100

2,3',4,4',5-PentaBDE- $^{13}\text{C}_{12}$ #118

以上を含む混合標準液 Cambridge Isotope Laboratories, Inc. 社製。

・ 内標準物質 ($^{13}\text{C}_{12}$ 標識ペンタブロモジフェニルエーテル) :

3,3',4,4',5-PentaBDE- $^{13}\text{C}_{12}$ #126

以上 Cambridge Isotope Laboratories, Inc. 社製。

・ アセトン, エタノール, ヘキサン : 残留農薬試験用 5000 倍濃縮検定品、シクロヘキサン : 残留農薬試験用 3000 倍濃縮検定品、無水硫酸ナトリウム, 塩化ナトリウム : 残留農薬試験用、硫酸 : 精密分析用、水酸化カリウム : 特級。

・ シリカゲルカートリッジカラム : Supelclean LC-Si 6mL Glass Tube, 1g (SUPELCO 社製)。

・ フロリジルカートリッジカラム : Supelclean Florisil 6mL Glass Tube, 1g (SUPELCO 社製)。

・ シリンジフィルター PURADISK25GD (1 μm , GMF-150), ガラス繊維ろ紙 GF/A (110mm ϕ) : Whatman 製。

・ 精製水 : MILLIPORE Mili-Q gradient A10 により調製。

〔 試薬の安全性・毒性 〕

・ PBDEs : —

・ 硫酸 : 皮膚に触れると有害である。皮膚または装置を腐食する。

・ 水酸化カリウム : 皮膚に触れると有害である。皮膚または装置を腐食する。

〔 器具 〕

ロータリーエバポレータ (恒温槽付き) : 抽出液の濃縮に用いる。

振とう器 : 分液ロートの振とうや底質からの抽出に用いる。

超音波洗浄器 : 試料の超音波攪拌に用いる。

遠心分離機 : 試料の抽出液の分離に用いる。

マイクロシリンジ (10 μ L): サロゲート化合物及び内標準液の添加に用いる。

分液ロート (250mL)、トールビーカー (200mL)、ナス型フラスコ (200mL)、共栓付き三角フラスコ (100mL)、スピッツ型共栓付き試験管 (10mL)、K D濃縮器用受器 (20mL)、遠心分離管 (100mL)、パストゥールピペット: アセトンで洗浄し、乾燥して用いる。長時間試料液を取り扱うガラス器具は、褐色が望ましい。

G P C 装置: 市販の高速液体クロマトグラフ (島津製 HPLC) を利用。

G P C カラム: 昭和電工 CLNpak PAE-2000 AC (プレカラム: PAE-G AC)。

テフロン製ラインフィルター (オシネ型: ジーエルサイエンス社製、プレカラムの前に装着する)。

ガスクロマトグラフ高分解能質量分析装置 (GC/HRMS): 分解能 10,000 以上で SIM 測定可能であること。

分析法

【試料の採取及び保存】

環境庁「化学物質環境調査における試料採取にあたっての留意事項」に従う。前処理操作は試料採取後、速やかに行う。やむを得ず困難な場合は、冷蔵庫内に保存する。

【試料の前処理】

〔底質・生物試料〕

底質 (湿泥) 試料約20g (乾泥換算試料量として10 g 相当 (注1))、又は生物試料20 gを100mL遠心分離管に分取し、精秤する。サロゲート化合物標準液 (0.2 μ g/mL) を正確に10 μ L添加し混合する (注2)。アセトン50mLを加え、生物試料はポリトロンホモジナイザーを用いてホモジナイズした後、密栓して10分間振とうし、10分間超音波抽出する。遠心分離 (2,500rpm、10分程度) を行い、得られたアセトン抽出液は、ガラス繊維ろ紙GF/Aでろ過し、200mLナス型フラスコに移す。残渣にアセトン50mLを加え、振とう (注3)・超音波抽出・遠心分離操作を繰り返し、得られた抽出液はGF/Aでろ過し、先の抽出液と合わせる。抽出液にエタノールを40mL加えロータリーエバポレータを用いて、約25mLまで減圧濃縮 (注4) し、試料抽出液を得る。

【試料抽出液の精製】

下記 ~ に示すクリーンアップ操作を組み合わせ、試料液を精製する。

〔クリーンアップ〕

試料抽出液を室温アルカリ分解 (項参照)、硫酸洗浄 (項参照)、G P C 処理 (項参照) 行った後、底質の場合はシリカゲルカートリッジカラム (項参照) 生物の場合はフロリジルカートリッジカラム (項参照) によるクリーンアップを行い、溶出液を、ロータリーエバポレータを用いて約0.2mLまで減圧濃縮し、測定用内標準液 (0.2 μ

g/mL)を正確に10 µL加えた後、窒素ガスを吹き付けて0.1mLまで濃縮し、測定用バイアル瓶にパスツールピペットを用いて移す。

クリーンアップ操作の詳細を下記に示す。

室温アルカリ分解

試料抽出液(エタノール溶液25mL)に1N KOH/エタノール溶液25mLを加え、室温で暗所に1時間放置する(注5)。

アルカリ分解液をエタノール10mL及びヘキサン60mLで洗い込み、予め精製水50mL加えた250mL分液ロートに移し、分液ロートを10分間振とうする。十分静置後、有機層(ヘキサン抽出液)を予め5%塩化ナトリウム溶液30mLを加えた250mL分液ロートに移す。水層(アルカリ分解液)は、ヘキサン50mLを用いて再度振とう抽出し、得られたヘキサン抽出液は、先のヘキサン抽出液と合わせ、穏やかに振とうして洗浄する(注6)。ヘキサン抽出液は、再度5%塩化ナトリウム溶液20mLを用いて再度振とう洗浄する。得られた試料抽出液は、200mLトールビーカーに移して無水硫酸ナトリウムを用いて脱水する。

硫酸洗浄

無水硫酸ナトリウムを用いて脱水した試料液(ヘキサン溶液、約100mL)を少量のヘキサンを用いて乾燥した250mL分液ロートに移し(注7)、濃硫酸10mLを加え、振とうする(注8)。分液により硫酸層を除去した後、更に濃硫酸5mLを加え振とう洗浄する。この操作を硫酸層が着色しなくなるまで繰り返す。洗浄後、有機層(試料液)は、予め5%塩化ナトリウム溶液30mLを加えた250mL分液ロートに移し(注9)、穏やかに振とうして洗浄する(注10)。試料液は、5%塩化ナトリウム溶液20mLを用いて再度振とう洗浄する。得られたヘキサン試料液は、200mLトールビーカーに移して無水硫酸ナトリウムを用いて脱水する。

G P C 処理

試料液(ヘキサン溶液)を200mLナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレータを用いて約0.5mL以下まで減圧濃縮し(注11)、アセトンで2mLにメスアップ後(沈殿が生じた場合はシリンジフィルターでろ過する(注12))、G P C 装置(注13)に注入し、15~18分の分画を分取する(注14)。分取開始前及び分取終了の度に、テトラヒドロフラン(T H F)/トルエン(1:1)2mLをG P C 装置に注入し、G P C カラムを洗浄する。

分取した試料液にノナン100 µLを添加し、ロータリーエバポレータを用いて0.5mLまで減圧濃縮し、ヘキサン5mLを添加して約0.5mLまで減圧濃縮する。再度ヘキサン5mLを添加して0.5mLまで濃縮し、アセトンを除去する(注15)。

G P C 装置の操作条件は、下記のとおりである。

カラム：昭和電工 CLNpak PAE-2000 AC（プレカラム：PAE-G AC）
ラインフィルター：ジーエルサイエンス テフロン製ラインフィルター（注16）
移動相及び流速：シクロヘキサン／アセトン（5：95） 4 mL/min（注17）
カラム温度：40
注入量：2mL（サンプルループ容量：2mL）
サイクルタイム：30分（洗浄時間を含めると約1時間）
検出器：紫外吸収検出器（UV：330nm）または示差屈折検出器（IR）

シリカゲルカートリッジカラムクロマトグラフィー

予めヘキサン10mLで洗浄したシリカゲルカートリッジカラム（注18）に20mL K D濃縮器用受器をセットした後、試料液をカラムに負荷（注19）し、液面をカラムベッドまで下げてから、ヘキサン10mLで試料液の入っていた容器及びカラム壁面を洗いながら溶出する。

フロリジルカートリッジカラムクロマトグラフィー

予めヘキサン10mLで洗浄したフロリジルカートリッジカラム（注18）に20mL K D濃縮器用受器をセットした後、試料液をカラムに負荷（注19）し、液面をカラムベッドまで下げてから、ヘキサン10mLで試料液の入っていた容器及びカラム壁面を洗いながら、溶出する。

【空試験液の調製】

[底質・生物]

試料を用いないで、【試料の前処理】及び【試料抽出液の精製】の項に従い処理したものを空試験液とする。

【標準液の調製】

各ネイティブ-ペンタブロモジフェニルエーテルの標準溶液をノナンで希釈し、0～100 ng/mLのネイティブ混合標準液（5段階以上）を作成する。サロゲート物質として使用するペンタブロモジフェニルエーテル（#99, #100, #118）-¹³C₁₂をノナン（添加用はアセトン）に溶解し、0.2 µg/mLサロゲート混合標準液を作成する（注20）。内標準として使用する2,2',3,3',4,4',5-ペンタブロモジフェニルエーテル(#126)-¹³C₁₂をノナンに溶解し、0.2 µg/mLの内標準液を作成する。各濃度のネイティブ標準液100 µLあたりサロゲート混合標準液と内標準液をそれぞれ10 µL添加し、検量線作成溶液とする。

【測定】

測定条件

〔GC/HRMS測定条件〕（注21）

（a）GC

- ・ カラム：溶融シリカキャピラリーカラム
液相：5% Phenyl Methylpolysiloxane（Agilent社、HP-5MS）
膜厚：0.1 μm 長さ、内径：30m $\times$ 0.32mm
- ・ 昇温条件：90（2分） - 10 / 分 - 200 - 5 / 分 - 310（10分）
- ・ 注入口温度：270
- ・ 注入法：スプリットレス法（1.5分後パージ開始），1 μL 注入
- ・ キャリアガス：He 1.5mL/min（定流量）

（b）HRMS

- ・ インタフェース部：ダイレクトカップリング（300℃）
- ・ イオン化法：EI
- ・ イオン化電圧：45 eV
- ・ イオン源温度：270
- ・ イオン化電流：700 μA
- ・ 検出モード：SIM
- ・ 分解能：10,000
- ・ 加速電圧：10kV
- ・ イオンマルチプライヤ電圧：1.2kV

（c）定量イオン（注22）

対象物質

5臭素化物	m/z	563.6217(M+4)	565.6197(M+6)
-------	-----	---------------	---------------

サロゲート物質及び内標準物質

5臭素化物- $^{13}\text{C}_{12}$	m/z	575.6620(M+4)	577.6600(M+6)
-----------------------------	-----	---------------	---------------

その他

3 臭素化物	m/z	405.8027(M+2)	407.8007(M+4)
4 臭素化物	m/z	483.7132(M+2)	485.7112(M+4)
6 臭素化物	m/z	641.5322(M+4)	643.5302(M+6)
7 臭素化物	m/z	721.4407(M+6)	723.4386(M+8)

〔 検量線 〕

感度係数法(RF)により試料を定量する。5段階以上の検量線作成溶液(最小は分析法の検出下限の3倍程度)1 μLを測定し、次式からRFを求める。RFの相対標準偏差が、15%以下の場合は、平均RFを用いて試料を定量する。毎測定時の試料測定前に、検量線の間濃度の標準液を測定して感度係数法で定量し、得られた定量値が注入標準液濃度の±15%以内であるなら、平均RFをそのまま用いて試料を定量する。±15%を外れた場合は、全ての標準液を測定し直して新たな平均RFを求めて試料の定量を行う。

$$R F = (A s \times C i s) / (A i s \times C s)$$

ここで、As：対象物質の測定イオンのピーク面積

Ais：サロゲート物質の測定イオンのピーク面積

Cis：検量線標準液中のサロゲート物質質量 (ng)

Cs：検量線標準液中の対象物質質量 (ng)

〔 定量及び濃度の算出 〕

本分析法では、次の方法で既知異性体濃度及び五臭素化物全体の濃度を求める。すなわち、ネイティブ標品異性体ピーク毎に保持時間が近いサロゲートピークと組み合わせ、RFを求め、異性体濃度の計算に用いる。ネイティブ標品以外の異性体ピークでは、各ネイティブ標品異性体のRFの平均値をRFとして濃度計算に用いる。RFを用いて、次式から検出量(ng)を求める。

計算式

$$\text{検出量(ng)} = (A s \times C i s) / (A i s \times R F)$$

ここで、As：対象物質の測定イオンのピーク面積

Ais：サロゲート物質の測定イオンのピーク面積

Cis：試料に添加したサロゲート物質質量(ng)

$$\text{試料中濃度(pg/g-dry、pg/g)} = (\text{検出量(ng)} \times 1000) / W$$

ここで、W：試料供試量 (g-dryあるいはg)

〔装置検出下限 (IDL)〕

本分析に用いた GC/MS の装置検出下限 (IDL) を以下に示す (注 23)。

物質名	ペンタブロモジフェニルエーテル											
IUPAC#	#103	#102	#100	#119	#88	#99	#116	#118	#106	#85	#126	#105
IDL 底質試料換算値 (pg/g 乾)	2.1	2.1	2.2	1.7	2.7	2.0	1.7	1.9	2.6	2.9	1.8	2.0
IDL 生物試料換算値 (pg/g 生)	1.1	1.0	1.1	0.83	1.3	1.0	0.83	1.0	1.3	1.4	0.9	1.0
平均(pg)	0.52	0.50	0.49	0.53	0.58	0.50	0.45	0.44	0.48	0.48	0.56	0.49
CV(%)	21	22	24	16	24	20	19	23	27	30	16	21

〔検出下限及び定量下限〕

本分析法の検出下限及び定量下限を以下に示す (注 24)。

物質名	底質 (µg/kg 乾)		生物 (µg/kg 生)	
	検出下限	定量下限	検出下限	定量下限
P5BDE#103	0.027	0.091	0.022	0.073
P5BDE#102	0.052	0.17	0.022	0.073
P5BDE#100	0.027	0.089	0.018	0.060
P5BDE#119	0.038	0.13	0.025	0.083
P5BDE#88	0.027	0.089	0.025	0.084
P5BDE#99	0.058	0.19	0.014	0.047
P5BDE#116	0.056	0.19	0.027	0.090
P5BDE#118	0.051	0.17	0.031	0.10
P5BDE#106	0.091	0.30	0.041	0.14
P5BDE#85	0.061	0.20	0.030	0.099
P5BDE#126	0.066	0.22	0.035	0.12
P5BDE#105	0.083	0.28	0.028	0.094

注 解

- 1) アセトンによる抽出率の低下を避けるため、底質試料は遠心分離 (2,500rpm、10 分) デカンテーションにより、間隙水をできるだけ除去する。予め水分含量を測定しておき、乾泥として 10g に相当する量を分取する。
- 2) サロゲート化合物及び測定用内標準の添加量及び試料液の濃縮量は、試料中濃度、GC/MS の感度等の状況に応じて適宜変更して良い。
- 3) 遠心分離管中の残渣は、振とう操作、ホモジナイズ操作等のみでは完全に混合し

ないため、ステンレス製スパーテル等を用いて十分に攪拌、分散させてから抽出する。

4) エタノールは、アセトン除去し、濃縮時の突沸を防止する目的で加える。エタノールが約 25mL 残存する量まで濃縮する。

5) アルカリ分解操作では、1N KOH / エタノール溶液 25mL を添加するため、アルカリ分解時の KOH 濃度は 0.5N となる。分解中、時々振り混ぜる。

6) ヘキサン抽出液中に混入した塩基性成分、グリセリン、エタノール等を除去する目的で行う。激しく振とうするとエマルジョンが生成するので、手で軽く振とうする。

7) 硫酸洗浄は危険な操作なので水分の混入による発熱、漏洩等に十分注意する必要がある。脱水時に用いた無水硫酸ナトリウムが混入すると、硫酸洗浄時にエマルジョンを生成しやすくなるので、混入は避ける。

8) 最初の洗浄時に強く振とうするとエマルジョンが生成して、分液が困難となるため、手で軽く振とうする。エマルジョンの生成が収まった場合は、振とう機で 10 分間振とうを行う。有機物量の多い底質試料では、5 回程度の洗浄が必要となる。

9) 濃硫酸が混入すると、次の水洗操作で濃硫酸に含まれる成分がヘキサン層に抽出されてくことや発熱の危険もあるため、試料抽出液は別の分液ポートに移す。

10) ヘキサン抽出液中に混入した硫酸、酸性成分等を除去する目的で行う。激しく振とうするとエマルジョンが生成する場合があるので、手で軽く振とうする。

11) 移動相 (シクロヘキサン / アセトン (5:95)) と性質の異なる溶媒を注入すると GPC の保持時間が乱れるため、ヘキサンの残存量を 0.5mL 以下とした。

12) 通常この操作は省略できる。固形物は、配管の詰まりを生じるばかりでなく、カラムの劣化の原因となることから、沈殿が生じた場合はろ過する。沈殿の原因となる単体硫黄は、アルカリ分解時に分解され、また、GPC では 18 ~ 20 分の分画に溶出するため妨害とはならない。

13) 市販の高速液体クロマトグラフ (HPLC) が使用できる。移動相の流速が大きいため、余熱ループを設けて、移動相の温度をカラム温度と同じにするのが望ましい。オートサンプラーを用いる場合は、全量注入は困難なため、実注入量を測定し、補正する。

14) カラムの劣化の程度、装置の仕様により、保持時間は変化するので、予め溶離パターンをチェックする必要がある。今回の操作条件では、ペンタブロモジフェニルエーテルは 15.5 ~ 17.5 分 (3 - 6 臭素化物 15 ~ 17.5 分) に溶出した。同じ条件で PCNs は 16 ~ 18 分、PCBs は 14.5 ~ 16.25 分、PCTs は 14.25 ~ 16.5 分、ヘキサブロモビフェニルは 15 ~ 19 分、その他の PBBs は 15 ~ 20 分に溶出する。本分析法では、前後に少しの余裕を持たせて 15 ~ 18 分を分取することとした。

15) アセトンが残存するとカラムクロマトの分離が乱れるので、十分に留去する。ノナンは乾固防止の目的で添加する。ノナンはシリカゲル及びフッ素化シリカカラムクロマトグラフィーの第 1 画分で回収されるため、最終的にはノナン溶液となる。

16) カラムの劣化、配管の詰まりを防止するため、ラインフィルターをプレカラムの前に装着する。カラムが詰まった場合は、ラインフィルターを交換または逆洗する。

操作中は、ヘッド圧の変動を監視し、ヘッド圧が上昇し、回復しない場合は、ラインフィルターの洗浄・交換を行い、更にプレカラムの交換の可否を判断する。

17) 移動相の溶媒を変更する場合は、移動相流速を 1 mL/min 程度に落としてから行う。移動相溶媒を変更するたびにカラムの理論段数が低下するので注意が必要である。

18) カラムは、ロットによって溶離パターンが変化する場合があるので、予め、溶離パターン、コンタミネーション及び妨害物質の有無等を必ず確認しておくこと。

19) パスツールピペットを用いると良い。

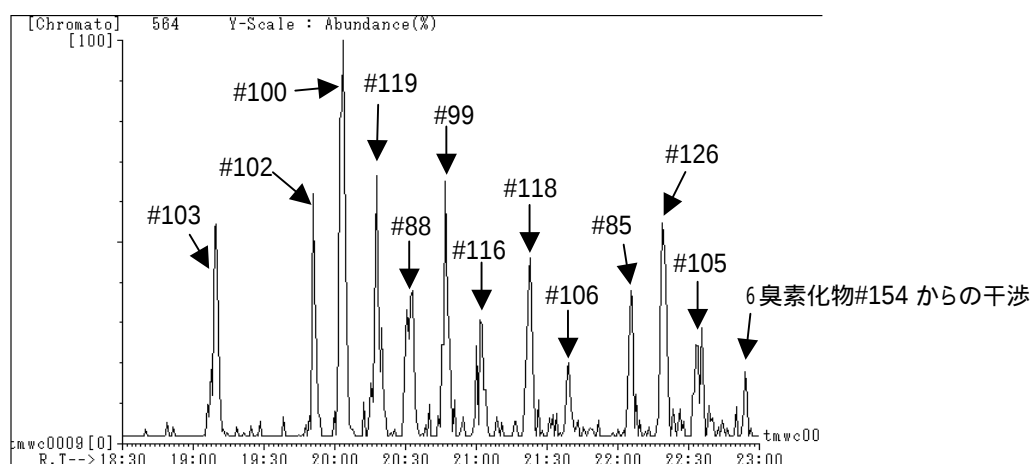
20) 市販（たとえば、Cambridge Isotope Laboratories, Inc. 社製など）のクリーンアップスパイクミックス溶液を使用すると簡便である。

21) 使用機種は、日本電子製 JMS MS-700D（GC：HP6890）である。

22) タイムグルーピングにより SIM 測定を行うことで、四以下の臭素化物の測定が可能であるが、五臭素化物を目的としているので早めに五、六、七臭素化物イオンのモニターを開始する。高臭素化物からのフラグメンテーションによる干渉を見るため 5, 6, 7 臭素化物イオンを同一グループでモニタする。

23) 装置検出下限（IDL）は、平成 11 年度年度第 16 回環境科学セミナー「分析法開発時における IDL 算定基準の具体案」に従い、以下のとおり算出し、測定時の代表的なクロマトグラムを示した。

物質名	ペンタプロモジフェニルエーテル											
IUPAC#	#103	#102	#100	#119	#88	#99	#116	#118	#106	#85	#126	#105
最終液量 (mL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
注入液濃度 (pg/ μ L)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
装置注入量 (μ L)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
結果 1	0.5	0.6	0.59	0.5	0.73	0.42	0.46	0.32	0.37	0.51	0.48	0.60
結果 2	0.5	0.6	0.45	0.5	0.63	0.54	0.44	0.48	0.50	0.40	0.60	0.56
結果 3	0.5	0.3	0.36	0.6	0.34	0.49	0.53	0.47	0.64	0.59	0.59	0.38
結果 4	0.5	0.6	0.32	0.6	0.74	0.52	0.31	0.28	0.46	0.49	0.64	0.47
結果 5	0.5	0.5	0.58	0.6	0.54	0.50	0.37	0.47	0.52	0.29	0.55	0.41
結果 6	0.4	0.4	0.51	0.4	0.57	0.67	0.54	0.47	0.28	0.37	0.40	0.40
結果 7	0.8	0.5	0.60	0.5	0.52	0.34	0.50	0.57	0.6	0.73	0.66	0.63
標準偏差	0.11	0.11	0.11	0.09	0.14	0.10	0.09	0.10	0.13	0.147	0.091	0.10
IDL (pg)	0.21	0.21	0.22	0.17	0.27	0.20	0.17	0.19	0.26	0.29	0.18	0.20
IDL 底質試料換算値												
(pg/g 乾)	2.1	2.1	2.2	1.7	2.7	2.0	1.7	1.9	2.6	2.9	1.8	2.0
IDL 生物試料換算値												
(pg/g 生)	1.1	1.0	1.1	0.83	1.3	1.0	0.83	1.0	1.3	1.4	0.9	1.0
平均 (pg)	0.52	0.50	0.49	0.53	0.58	0.50	0.45	0.44	0.48	0.48	0.56	0.49
CV (%)	21	22	24	16	24	20	19	23	27	30	16	21



IDL 付近のペンタブロモジフェニルエーテルの SIM クロマトグラム (0.2ng/mL)

24) 検出下限及び定量下限は「化学物質分析法開発マニュアル(案)」(昭和 62 年 3 月)に定められた方法に従い、以下のように算出した。

底質 (水島沖、サロゲート法による)

異性体 統計量	#103	#102	#100	#119	#88	#99	#116	#118	#106	#85	#126	#105
検出下限推定値(μg/kg)	0.021	0.021	0.022	0.017	0.027	0.020	0.017	0.019	0.026	0.029	0.018	0.020
試料濃度(μg/kg)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
無添加試料分析値(n=2)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
分析値 X	0.19	0.22	0.19	0.21	0.16	0.19	0.15	0.18	0.17	0.16	0.18	0.21
標準偏差 Sc	0.0087	0.017	0.0085	0.012	0.0085	0.018	0.018	0.016	0.029	0.020	0.021	0.026
検出下限 DL	0.027	0.052	0.027	0.038	0.027	0.058	0.056	0.051	0.091	0.061	0.066	0.083
95%信頼区間下限 LCL	0.018	0.033	0.017	0.024	0.017	0.037	0.036	0.033	0.058	0.039	0.042	0.053
95%信頼区間上限 UCL	0.060	0.11	0.059	0.083	0.059	0.13	0.12	0.11	0.20	0.14	0.15	0.18

生物 (ボラ、サロゲート法による)

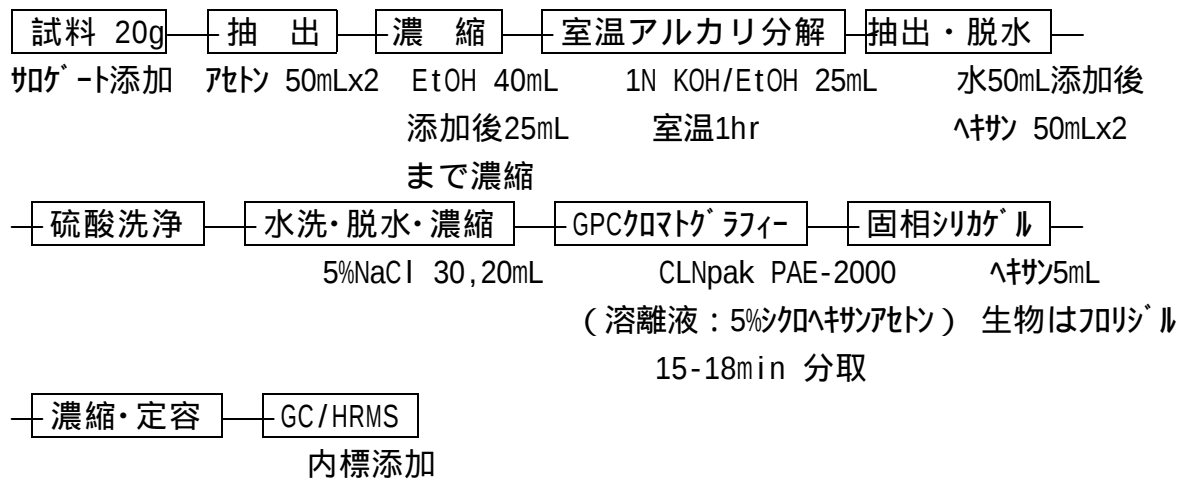
異性体 統計量	#103	#102	#100	#119	#88	#99	#116	#118	#106	#85	#126	#105
検出下限推定値(μg/kg)	0.011	0.010	0.011	0.008	0.013	0.010	0.0083	0.010	0.013	0.014	0.0089	0.010
試料濃度(μg/kg)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
無添加試料分析値(n=2)	0.0070	ND	0.059	0.0085	ND	0.0075	ND	ND	ND	ND	ND	ND
添加試料正味分析値 X	0.046	0.059	0.045	0.051	0.059	0.055	0.048	0.054	0.060	0.058	0.059	0.048
標準偏差 Sc	0.0070	0.0070	0.0058	0.008	0.008	0.0045	0.009	0.0098	0.013	0.0095	0.011	0.0090
検出下限 DL	0.022	0.022	0.018	0.025	0.025	0.014	0.027	0.031	0.041	0.030	0.035	0.028
95%信頼区間下限 LCL	0.014	0.014	0.012	0.016	0.016	0.009	0.017	0.020	0.026	0.019	0.022	0.018
95%信頼区間上限 UCL	0.049	0.049	0.040	0.055	0.056	0.031	0.059	0.068	0.091	0.065	0.077	0.062

§2 解 説

【分析法】

〔フローチャート〕

底質・生物（アセトン抽出・室温アルカリ分解・硫酸洗浄・GPC法）

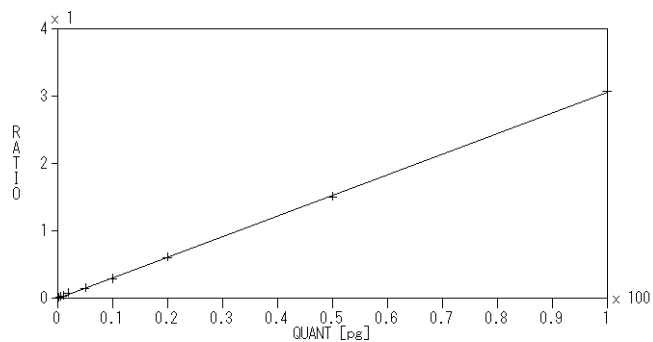


〔分析法の検討〕

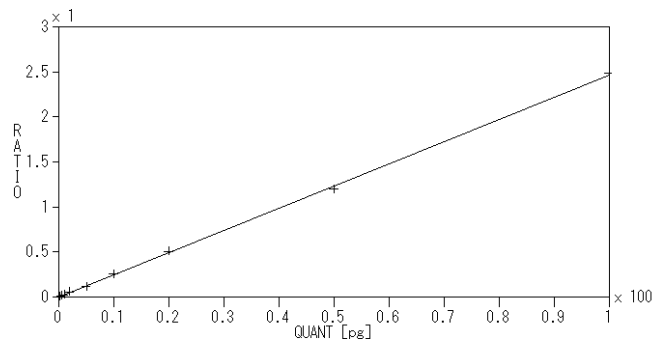
1. 検量線

下記に検量線(0.2 ~ 100ng/mL)の例を示す。

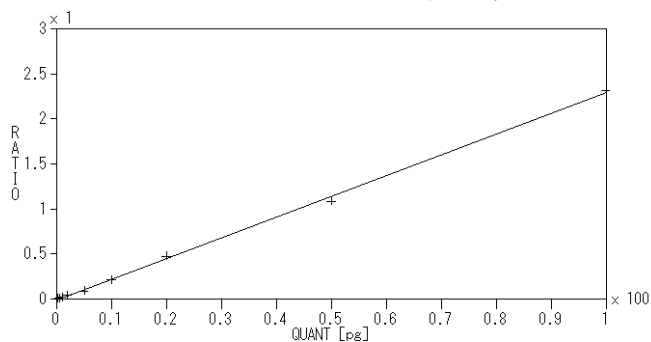
2,2',4,4',6-PentaBDE (#100)



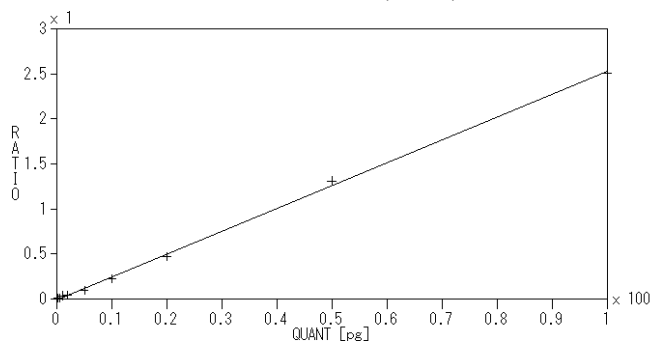
2,2',4,5,6'-PentaBDE (#102)



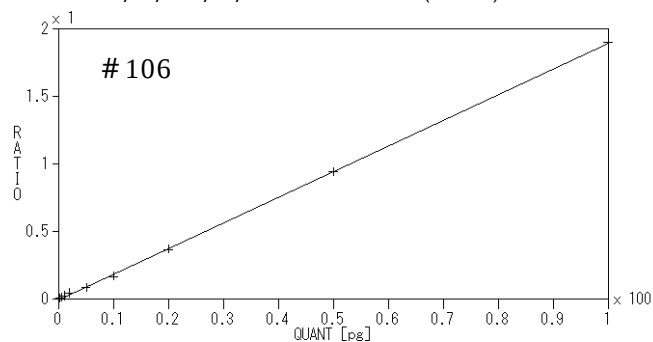
2,2',4,5',6-PentaBDE (#103)



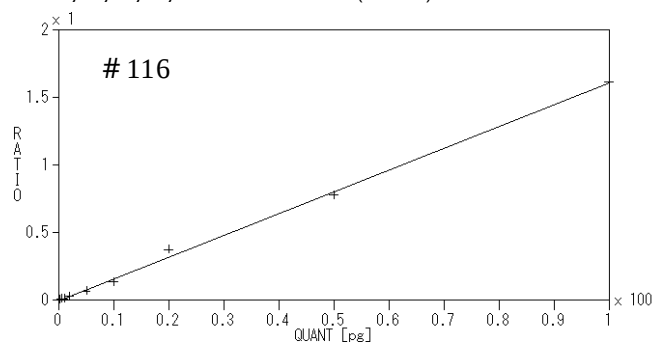
2,3,3',4,4'-PentaBDE (#105)



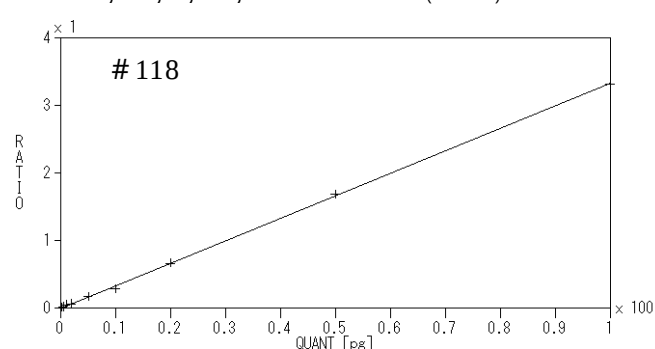
2,3,3',4,5-PentaBDE (#106)



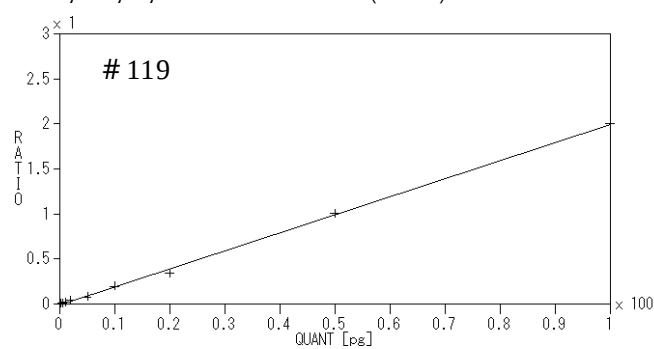
2,3,4,5,6-PentaBDE (#116)



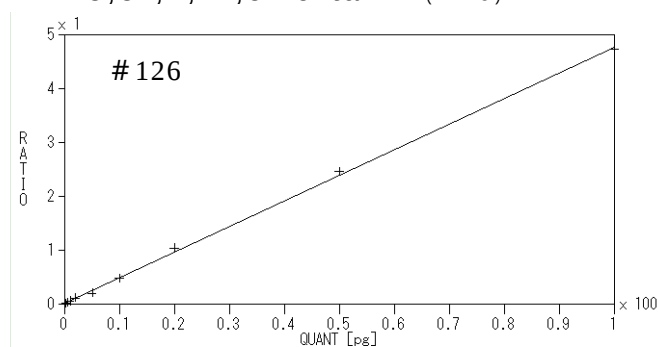
2,3',4,4',5-PentaBDE (#118)



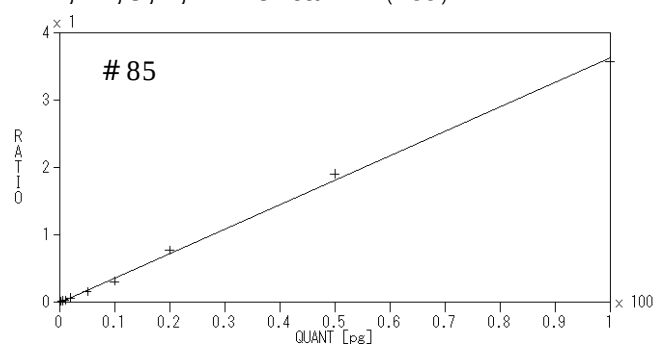
2,3',4,4',6-PentaBDE (#119)



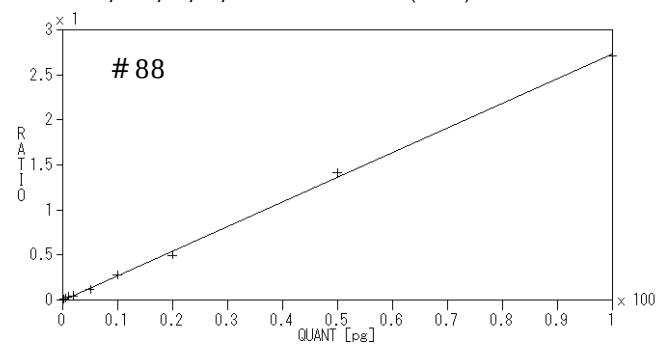
3,3',4,4',5-PentaBDE (#126)



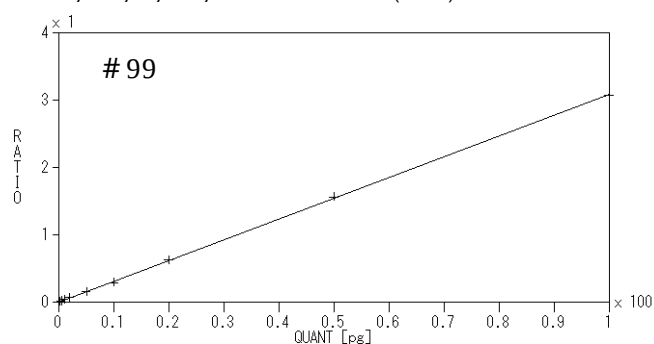
2,2',3,4,4'-PentaBDE (#85)



2,2',3,4,6-PentaBDE (#88)



2,2',4,4',5-PentaBDE (#99)



2. クリーンアップ法の検討

2-1). アルカリ分解及び硫酸洗浄における回収率

アルカリ分解及び硫酸洗浄等からの添加回収実験を行った結果を次表に示す。環境

試料中に多量に存在する 10 臭素化物 (D10BDE (# 209)) がアルカリ分解 (室温 1 h r 及び 20 h r) 及び硫酸洗浄により 3 ~ 6 臭素化物を生成するか否かを検討するため、D10BDE(#209)のみ 100ng を添加した試料を調製し同様の実験 (最終濃縮液量 100 μ L) を行ったが、3 ~ 6 臭素化物の生成は認められなかった。

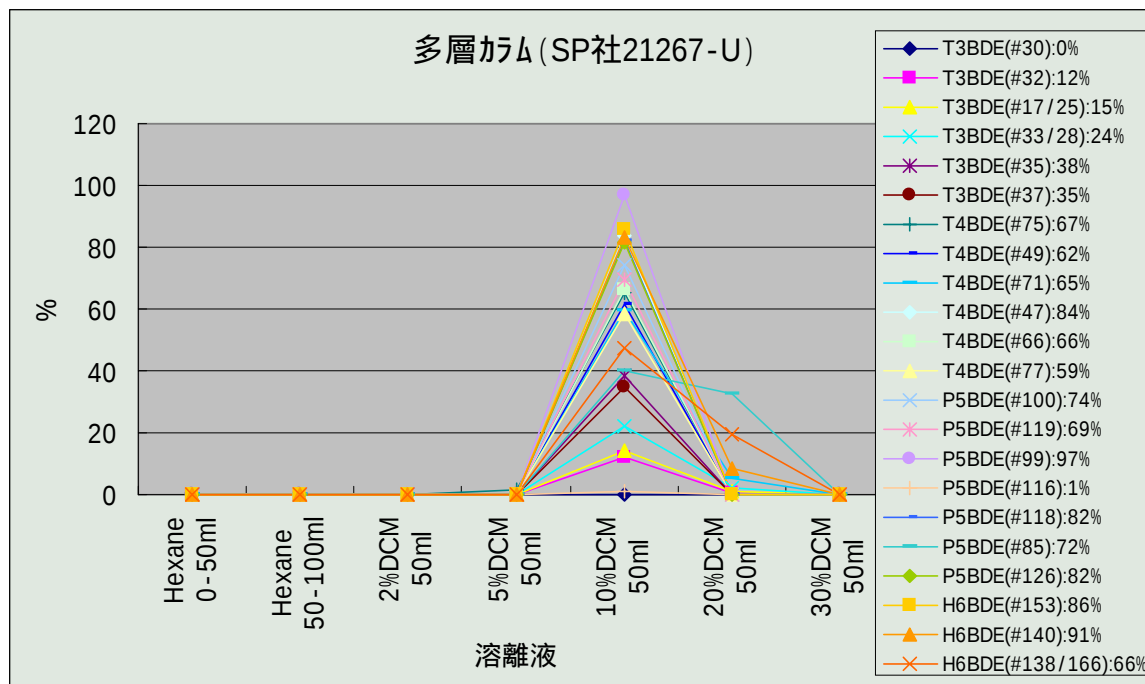
ヘキサン抽出による回収率% (平均値)	EtOH から抽出 (1hr)	1N KOH /EtOH (室温 1hr アルカリ分解後)	1N KOH /EtOH (室温 20hr アルカリ分解後)	室温 20hr アルカリ分解後に水、アセトン各 10ml を加えて抽出	硫酸洗浄 (5 回処理)
n =	2	2	3	3	2
T3BDE(#30)	73	71	97	96	66
T3BDE(#32)	76	75	92	91	75
T3BDE(#17/25)	79	76	103	98	77
T3BDE(#33/28)	80	79	93	88	80
T3BDE(#35)	86	85	115	96	83
T3BDE(#37)	85	85	103	100	89
T4BDE(#75)	76	79	94	99	78
T4BDE(#49)	85	86	98	91	84
T4BDE(#71)	78	79	95	88	77
T4BDE(#47)	86	90	93	105	86
T4BDE(#66)	99	101	100	94	103
T4BDE(#77)	86	88	97	100	86
P5BDE(#100)	85	86	84	89	85
P5BDE(#119)	89	90	82	97	89
P5BDE(#99)	93	85	83	102	86
P5BDE(#116)	88	84	65	92	89
P5BDE(#118)	93	88	84	99	90
P5BDE(#85)	90	86	112	116	88
P5BDE(#126)	76	74	100	115	74
H6BDE(#153)	87	85	98	113	90
H6BDE(#140)	81	83	79	112	86
H6BDE(#138/166)	89	95	85	114	98

2-2). カラムクロマトグラフィーにおける分離状況

以下に示す 7 種類のカラムについて検討した。硝酸銀シリカゲルを使用した場合は PBDEs の一部の異性体の回収率が低下した。

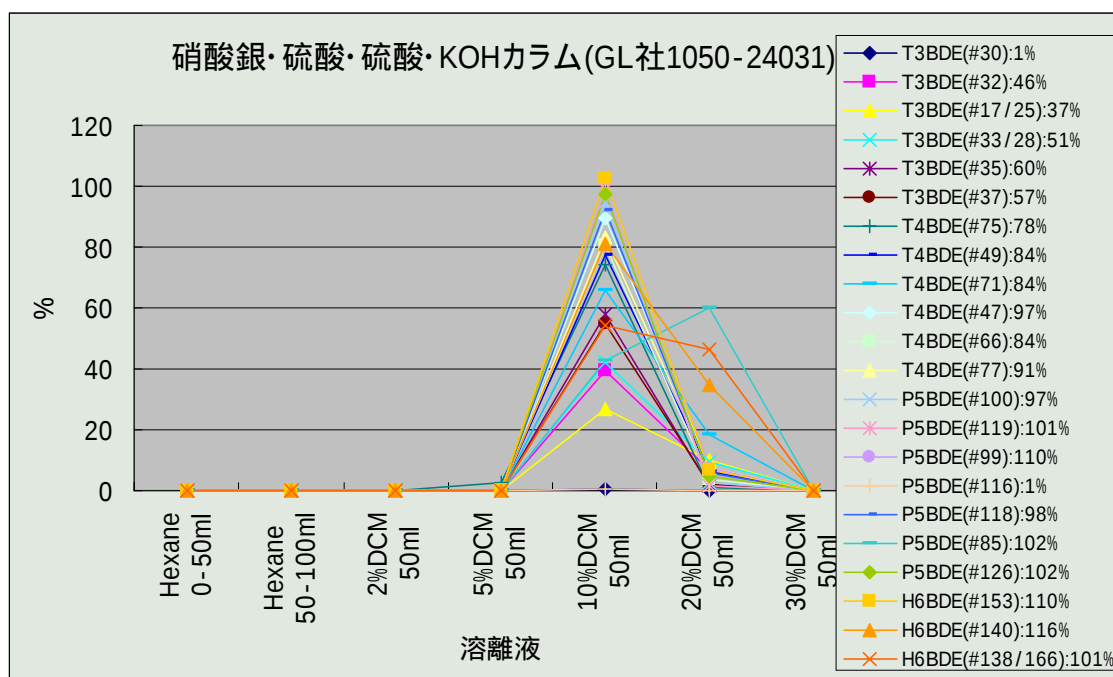
スペルコ社製 21267-U (10%硝酸銀シリカゲル 3g+22%硫酸シリカゲル 6g+44%硫酸シリカゲル 4.5g+2%KOH シリカゲル 3 g)

10%及び20%ジクロロメタン/ヘキサン画分に溶離するが、P5BDE#116の回収率が1%であったため、使用できないことがわかった。なお、分析対象物質ではないが、T3BDEの回収率は0-39%であった。

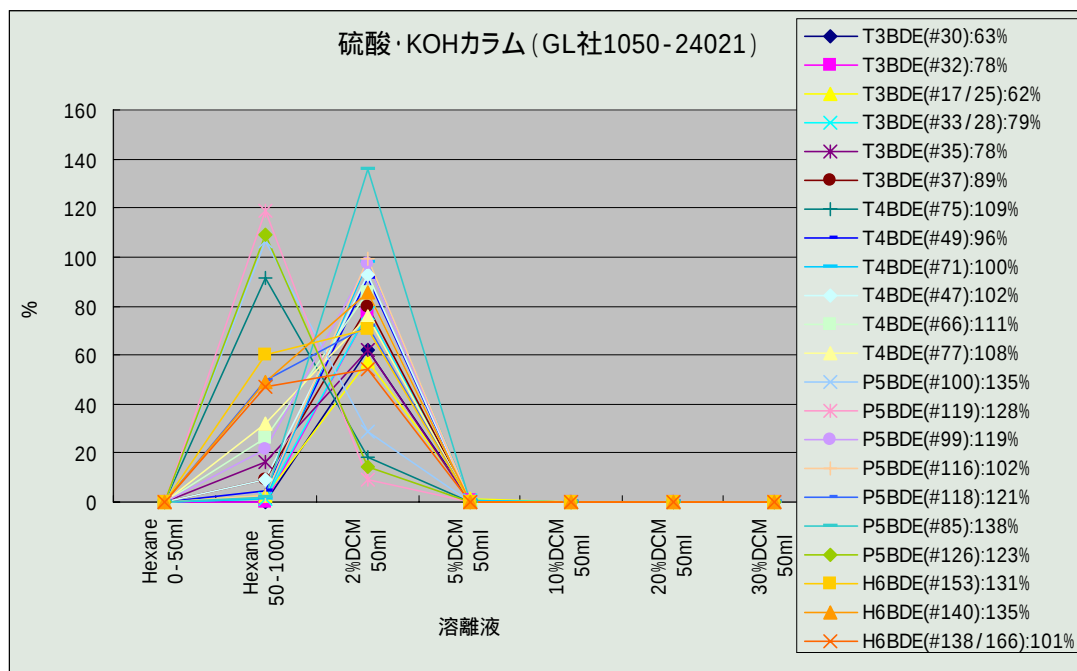


GLサイエンス社製 1050-24031 (10%硝酸銀シカール 3g+22%硫酸シカール 4.5g+44%硫酸シカール 6g+2%KOHシカール 3g)

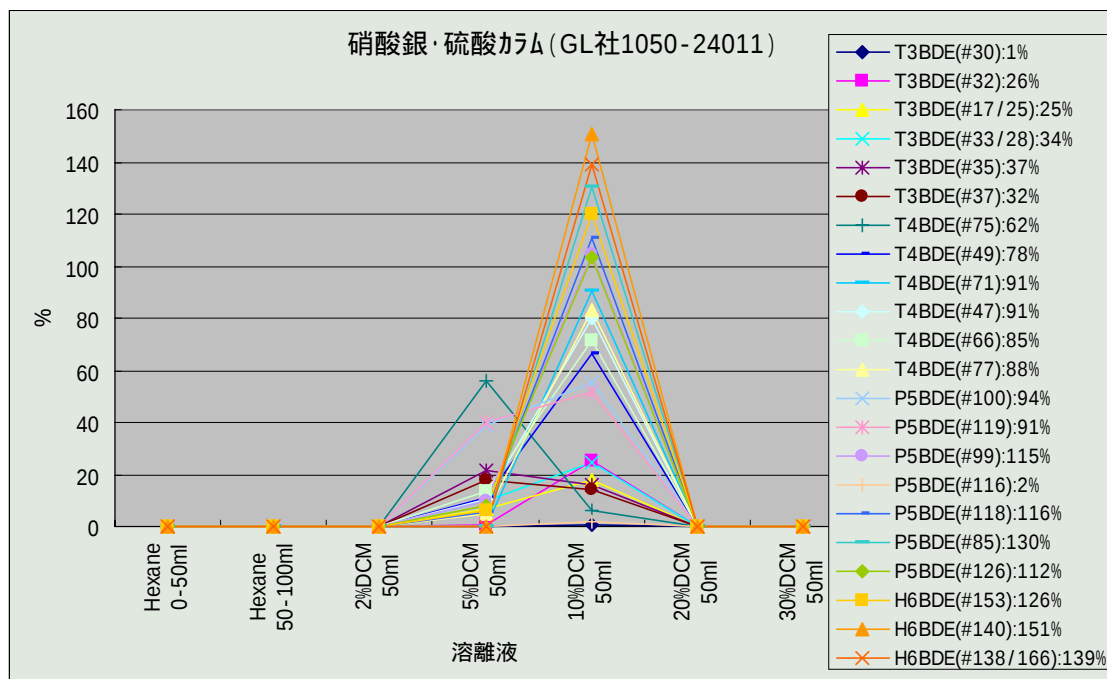
10%及び20%ジクロロメタン/ヘキサン画分に溶離するが、P5BDE#116の回収率が1%であったため、使用できないことがわかった。なお、分析対象物質ではないが、T3BDEの回収率はT3BDE #30の回収率が1-60%であった。



ヘキサン 50-100mL から 20%ジクロロメタン / ヘキサン画分に溶離することがわった。回収率は 62-138% (P5BDE は 102-138%) でありアルカリ分解及び硫酸洗浄代用として簡便に使用できる可能性がある。

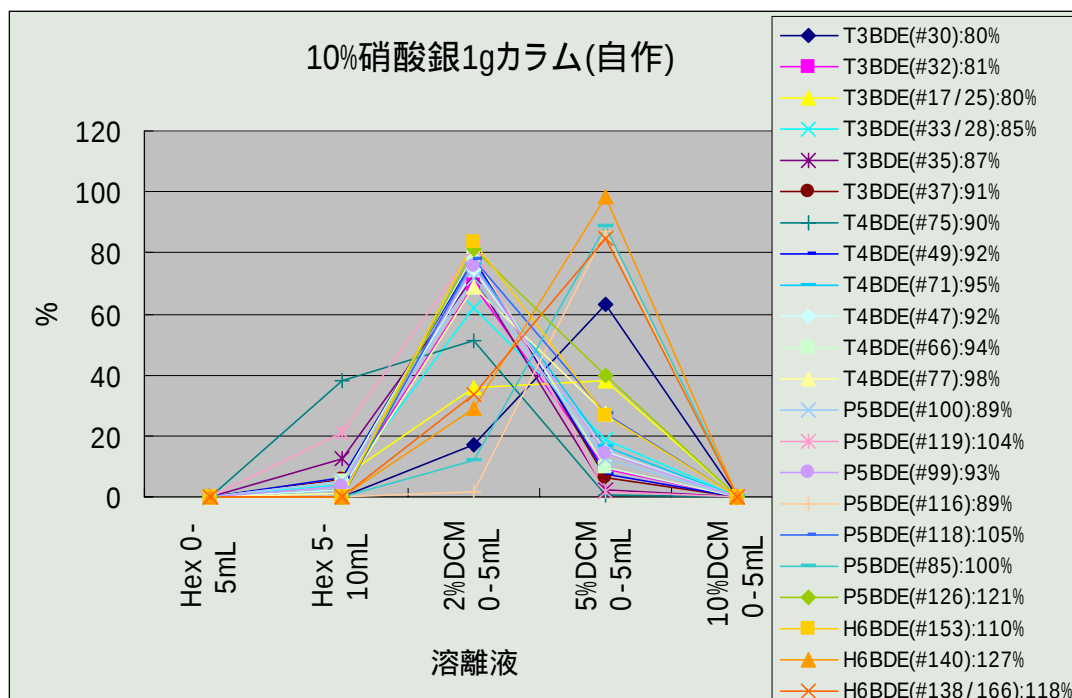


GL サイエンス社製 1050-24011 (10%硝酸銀シカール 3 g +44%硫酸シカール 4.5 g)
5%及び 10%ジクロロメタン / ヘキサン画分に溶離するが、P5BDE#116 の回収率が
2%であったため、使用できないことがわかった。なお、分析対象物質ではないが、
T3BDE の回収率は 1-37%であった。



10%硝酸銀カラム (和光純薬製 10%硝酸銀シリカゲル 1g、12mm φ)

硝酸銀シリカゲル層を含有する市販カラム、では P5BDE#116 及び T3BDE の回収率が低かったため、より少量の硝酸銀シリカゲルカラムを調製し実験したところ PBDE はヘキサン 5-10mL から 5%ジクロロメタン / ヘキサン画分の範囲に溶出した。分析対象物質である P5BDE の回収率は 89-121%(実験に用いた 3-6 臭素化物異性体全体では 80-127%)であった。



スペルコ社製 LC-Si 6mL Glass Tube 54335-UA (シリカゲル 1g) 及び スペルコ社製 LC-Florisil 6mL Glass Tube 54334-U (フロリジル 1g)

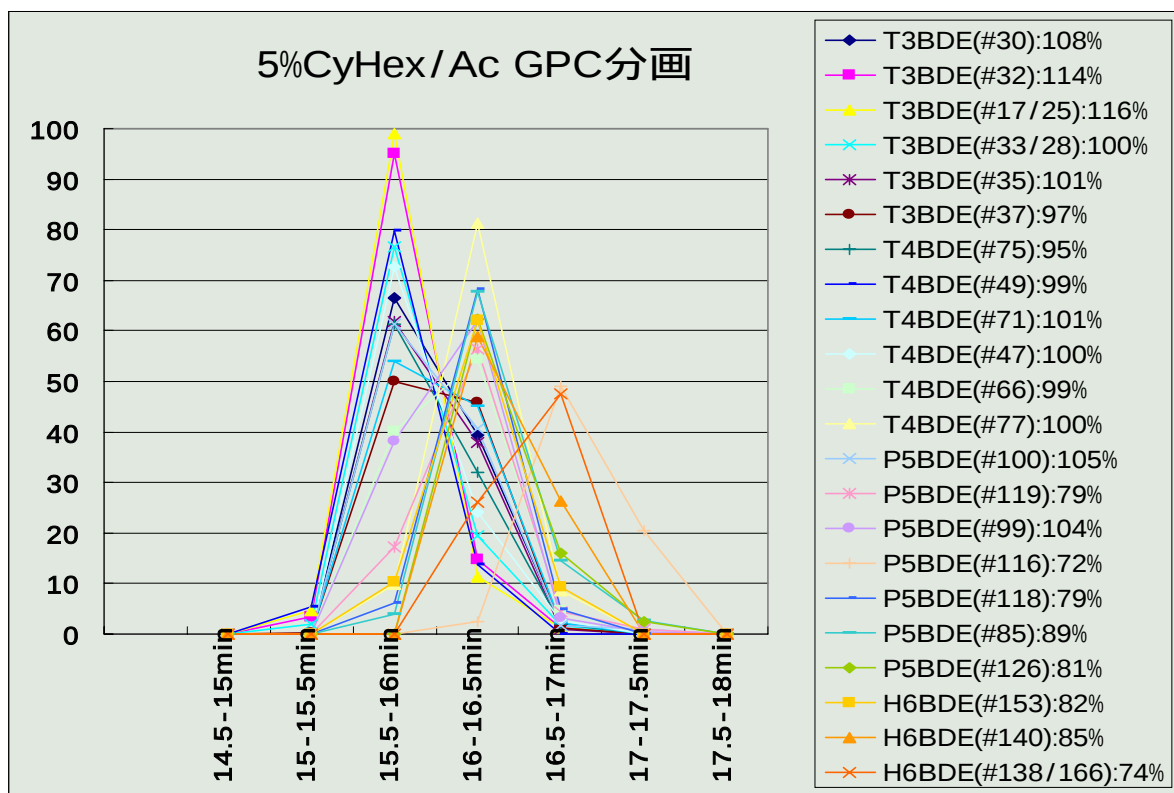
いずれのカラムも、ほとんどがヘキサン 0-5mL 画分に溶出した。分析対象物質である P5BDE の回収率はシリカゲルが 84-115%、フロリジルが 88-114%であった。本分析法に採用したが、市販のカートリッジカラムはメーカーやロットにより溶出パターンが異なることがあるので必ず事前に確認する必要がある。

%	LCSi-1	LCSi-2	LCSi-3	LCSi	Florisil-1	Florisil-2	Florisil-3	Folisil
	Hexane	Hexane	Hexane	Total	Hexane	Hexane	Hexane	Total
	0-5mL	5-10mL	10-15mL	Recovery	0-5mL	5-10mL	10-15mL	Recovery
T3BDE(#30)	99	N.D	N.D	99	111	0.5	ND	112
T3BDE(#32)	92	4.0	N.D	96	100	0.6	ND	100
T3BDE(#17/#25)	85	4.4	N.D	89	90	0.2	ND	90
T3BDE(#28/#33)	92	0.6	N.D	93	93	0.3	ND	93
T3BDE(#35)	92	N.D	N.D	92	95	N.D	ND	95
T3BDE(#37)	85	0.1	N.D	85	95	N.D	ND	95

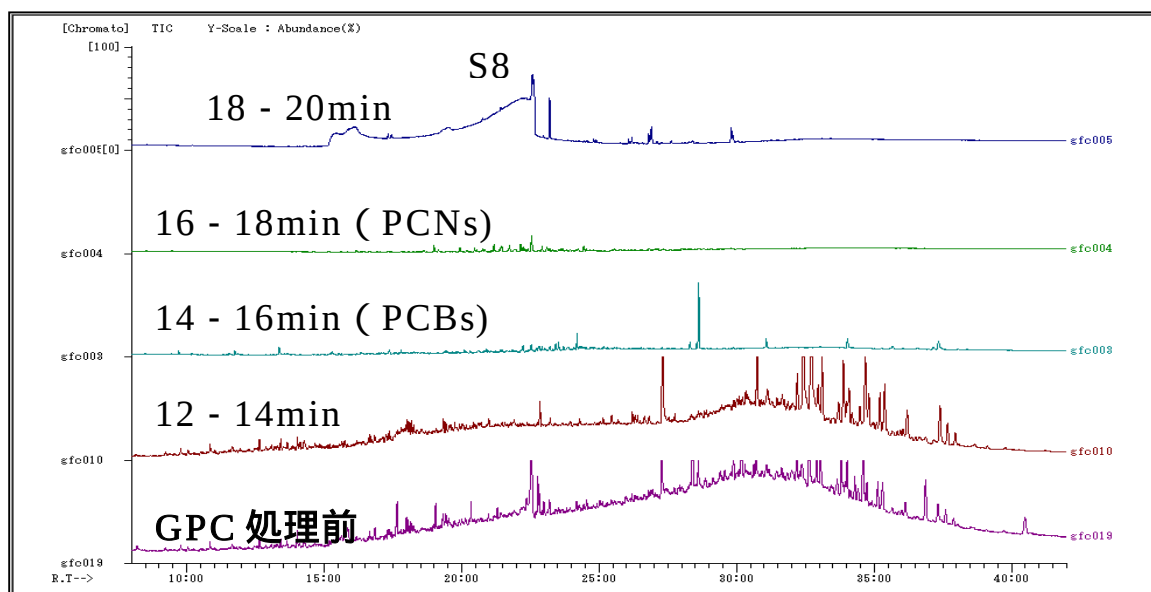
T4BDE(#75)	108	N.D	N.D	108	97	N.D	ND	97
T4BDE(#49)	106	N.D	N.D	106	99	N.D	ND	99
T4BDE(#71)	101	2.7	N.D	104	83	N.D	ND	83
T4BDE(#47)	105	0.2	N.D	105	93	N.D	ND	93
T4BDE(#66)	104	N.D	N.D	104	95	N.D	ND	95
P5BDE(#103)	92	0.0	N.D	92	104	N.D	ND	104
P5BDE(#102)	81	6.9	N.D	87	108	N.D	ND	108
P5BDE(#100)	100	N.D	N.D	100	101	N.D	ND	101
P5BDE(#119)	95	N.D	N.D	95	103	N.D	ND	103
P5BDE(#88)	89	0.8	N.D	90	89	1.2	ND	90
P5BDE(#99)	88	N.D	N.D	88	88	N.D	ND	88
P5BDE(#116)	84	N.D	N.D	84	94	N.D	ND	94
P5BDE(#118)	96	N.D	N.D	96	114	N.D	ND	114
P5BDE(#106)	94	N.D	N.D	94	102	N.D	ND	102
P5BDE(#85)	84	0.8	N.D	85	111	N.D	ND	111
P5BDE(#126)	96	0.1	N.D	96	107	N.D	ND	107
P5BDE(#105)	115	0.4	N.D	115	89	N.D	ND	89
H6BDE(#154)	81	N.D	N.D	81	95	N.D	ND	95
H6BDE(#153)	98	N.D	N.D	98	92	N.D	ND	92
H6BDE(#140)	77	N.D	N.D	77	96	N.D	ND	96
H6BDE(#138 / #166)	67	N.D	N.D	67	97	N.D	ND	97
H7BDE(#183)	94	N.D	N.D	94	105	N.D	ND	105
H7BDE(#181)	92	N.D	N.D	92	106	N.D	ND	106
H7BDE(#190)	96	N.D	N.D	96	104	N.D	ND	104

2-3). GPC によるクリーンアップ

5%シクロヘキサン/アセトンによる溶出パターンを下図に示す。実験に用いた 3-6 臭素化物異性体は 15～17.5 分に溶出した。GPC カラムは劣化によりパターンが変化するので、事前に溶出パターンを把握しておく必要がある。分析対象物質である P5BDE の回収率は 72-105%（実験に用いた 3-6 臭素化物異性体全体では 72-116%）であった。



底質試料に対する G P C 処理の効果を下図に示すが、PBDEs、PCB 及び PCN が溶出する画分には、妨害はほとんど認められない。



3．低濃度添加回収実験結果

サロゲート法による低濃度添加回収試験の結果を表に示す。

低濃度添加回収結果(底質、水島沖)

統計量 \ 異性体	#103	#102	#100	#119	#88	#99	#116	#118	#106	#85	#126	#105
添加量 (ng)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
測定回数	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
内標法回収率 (%)	78	85	73	79	72	78	66	83	74	76	81	85
内標法変動係数 (%)	5.1	5.9	6.7	8.8	7.1	8.1	11	8.5	10	7.2	8.1	11
サロゲート法回収率 (%)	95	110	93	107	82	93	73	89	87	80	92	105
サロゲート法変動係数 (%)	4.6	7.6	4.6	5.6	5.2	10	12	9.1	17	12	11	13

低濃度添加回収結果(生物、ボラ)

統計量 \ 異性体	#103	#102	#100	#119	#88	#99	#116	#118	#106	#85	#126	#105
添加量 (ng)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
測定回数	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
内標法回収率 (%)	58	75	46	67	81	73	64	65	73	71	75	61
内標法変動係数 (%)	9.3	11	48	29	15	22	26	22	19	13	11	21
サロゲート法回収率 (%)	93	117	91	102	118	110	97	108	121	116	119	96
サロゲート法変動係数 (%)	15	12	13	15	14	8.2	18	18	22	16	19	19

4．分解性スクリーニング結果

分解性試験の結果を次表に示す。顕著な分解性は認められなかった。また、環境試料中に多量に存在する 10 臭素化物 (D10BDE (#209)) の分解による 3~6 臭素化物の生成を想定し、D10BDE(#209)のみ 100ng を添加した試料を調製し同様の分解性試験 (最終濃縮液量 100 μ L) を行ったが、3~6 臭素化物の生成は認められなかった。

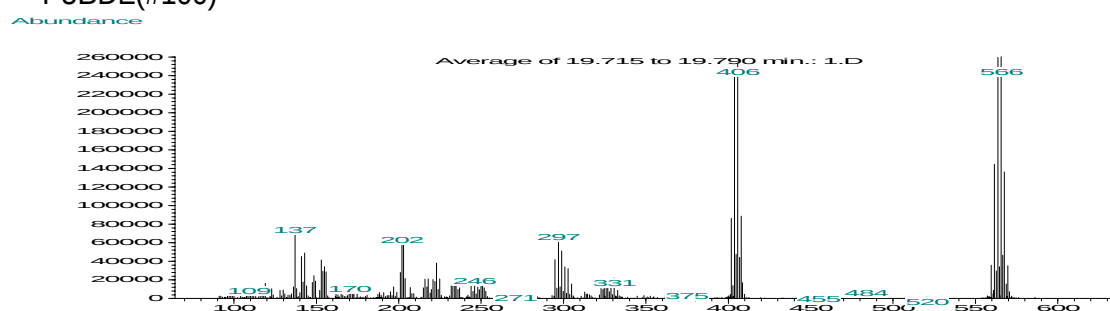
回収率% (平均値、n=2)	1時間後			暗所 5日後			明所 5日後		
	pH5	pH7	pH9	pH5	pH7	pH9	pH5	pH7	pH9
T3BDE(#30)	109	113	99	117	144	106	86	103	100
T3BDE(#32)	103	117	94	108	129	111	89	96	98
T3BDE(#17/25)	110	109	93	112	138	112	90	96	102
T3BDE(#33/28)	108	107	100	110	120	106	93	98	100
T3BDE(#35)	102	115	105	99	137	114	86	95	99
T3BDE(#37)	101	106	97	95	132	104	84	100	94
T4BDE(#75)	111	117	103	118	143	108	94	95	105
T4BDE(#49)	96	113	100	101	128	102	94	100	96
T4BDE(#71)	118	114	108	117	116	111	97	93	110
T4BDE(#47)	117	139	106	124	144	113	102	101	105
T4BDE(#66)	105	126	103	112	135	103	95	98	92
T4BDE(#77)	107	132	110	109	144	125	102	101	101
P5BDE(#100)	102	116	111	115	106	108	96	99	103
P5BDE(#119)	100	112	100	101	118	110	91	97	91
P5BDE(#99)	100	127	109	112	111	101	100	110	111
P5BDE(#116)	95	118	103	97	139	108	86	102	84
P5BDE(#118)	105	133	80	111	115	117	100	81	91
P5BDE(#85)	106	88	95	108	104	96	88	83	93
P5BDE(#126)	98	109	107	96	111	99	95	80	96
H6BDE(#153)	80	88	81	86	140	101	82	88	88
H6BDE(#140)	100	105	99	89	99	92	90	97	91
H6BDE(#138/166)	106	117	100	99	128	134	87	88	87

添加量：10ng/100mL

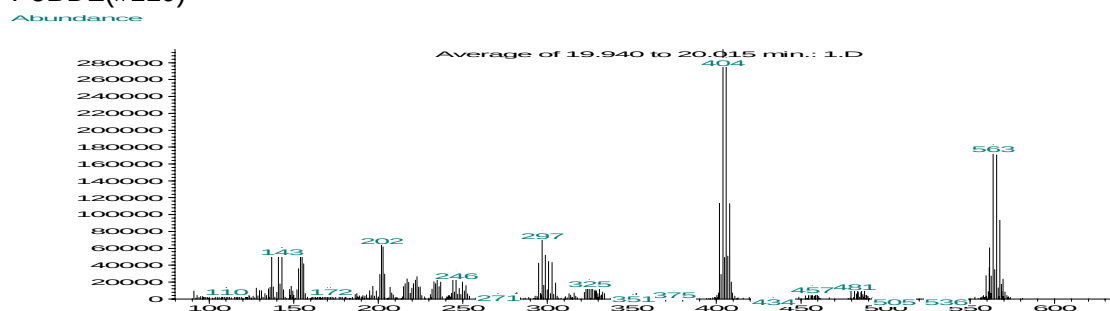
5. マススペクトル

得られたマススペクトル(70eV)の例を以下に示す。イオン化電圧が45eVの場合は、70 eVに比較して臭素 1 個が脱離したフラグメントイオンの強度が高くなる。このため高臭素化物を測定する目的で脱臭素イオンをモニタする場合は、適切なイオン化電圧を設定する必要がある。

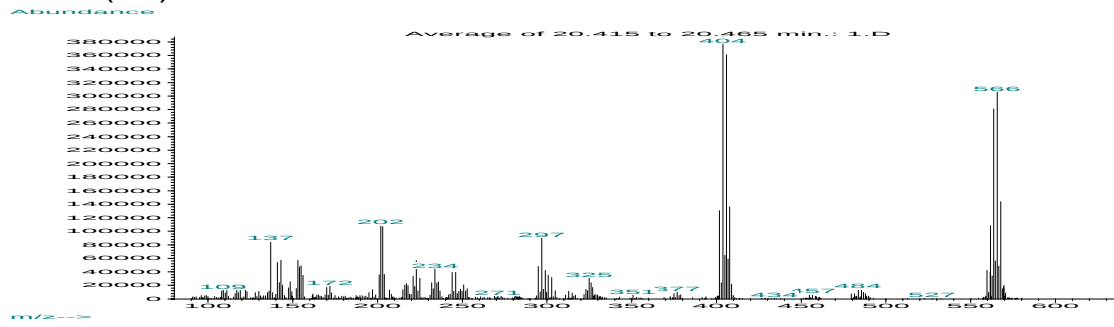
P5BDE(#100)



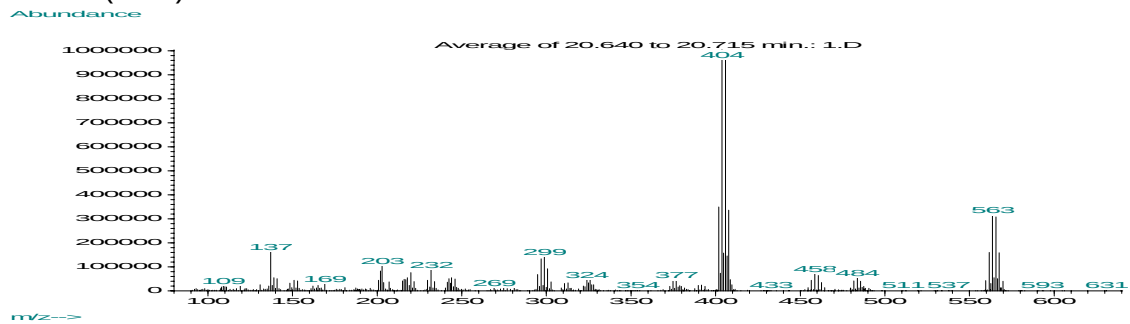
P5BDE(#119)



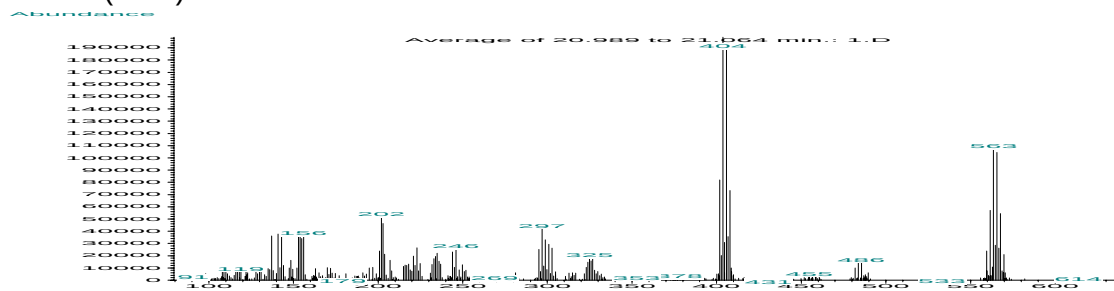
P5BDE(#99)



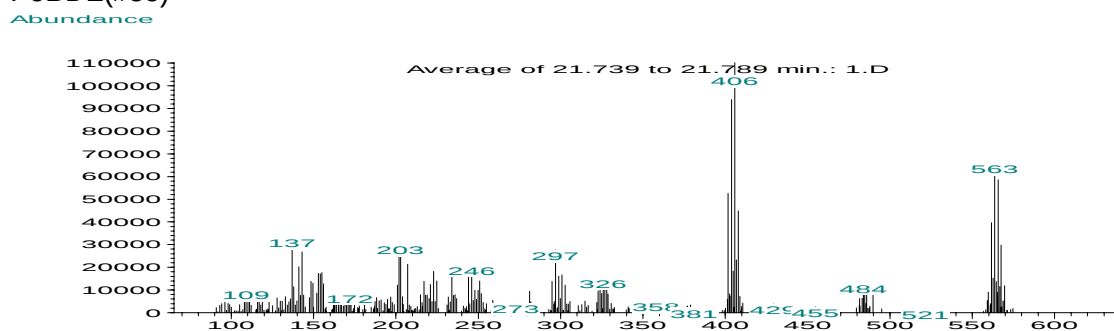
P5BDE(#116)



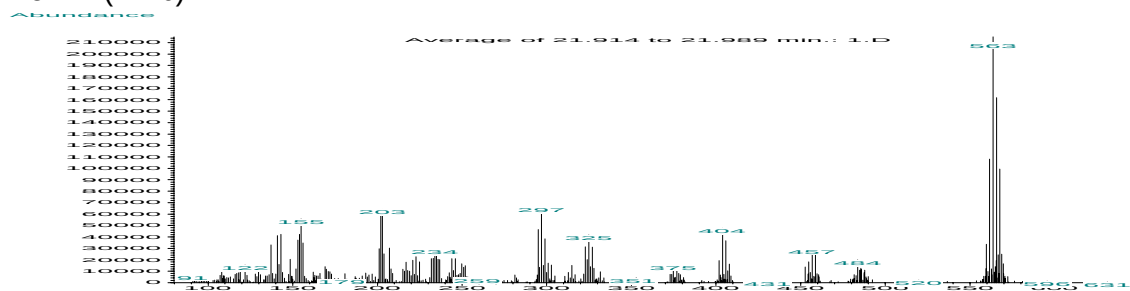
P5BDE(#118)



P5BDE(#85)

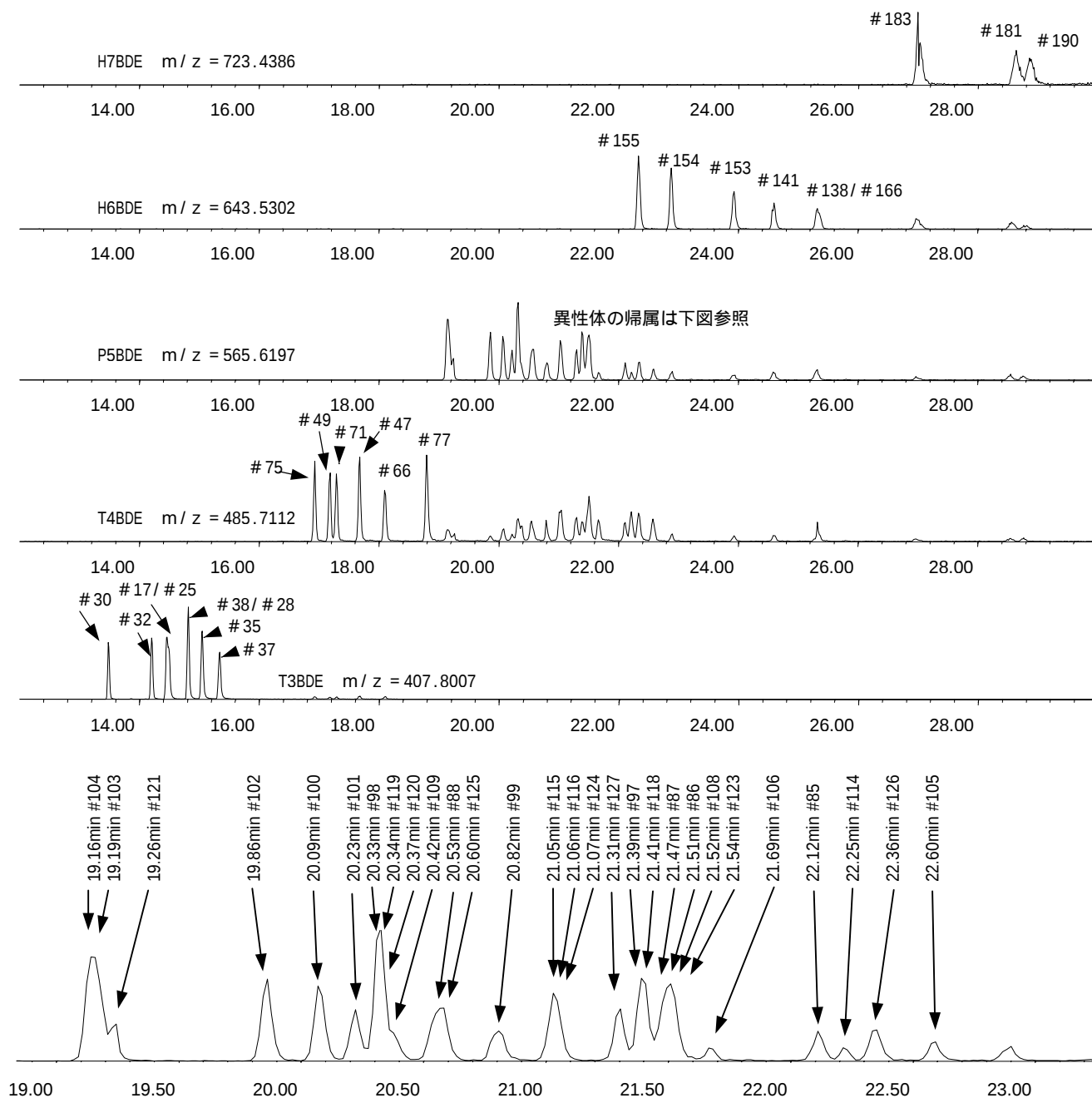


P5BDE(#126)



6. クロマトグラム

分析対象及び関連する物質のクロマトグラムを以下に示す。



7. 類似化学物質からの妨害について

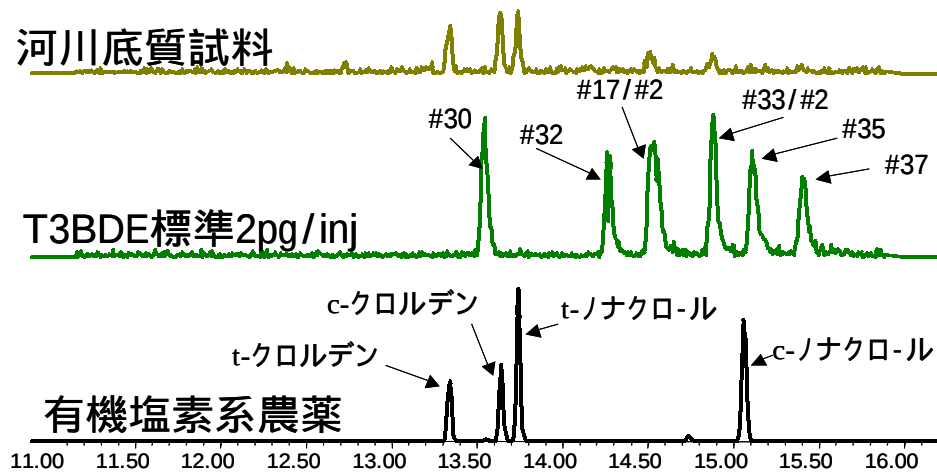
PCBs、PCNs、PCTs、PBBs、PCDDs、PCDFs及び有機塩素系農薬を1 ng (IDLの1000倍相当) レベル注入しSIM測定を行ったが、P5BDEのSIMクロマトグラムには妨害を与えなかった。しかしながら、有機塩素系農薬の一部はT3BDEのSIM測定に妨害を与えた。河川底質試料の分析においてもT3BDE測定ではこの影響がみられた。

ブランク試料

河川底質試料

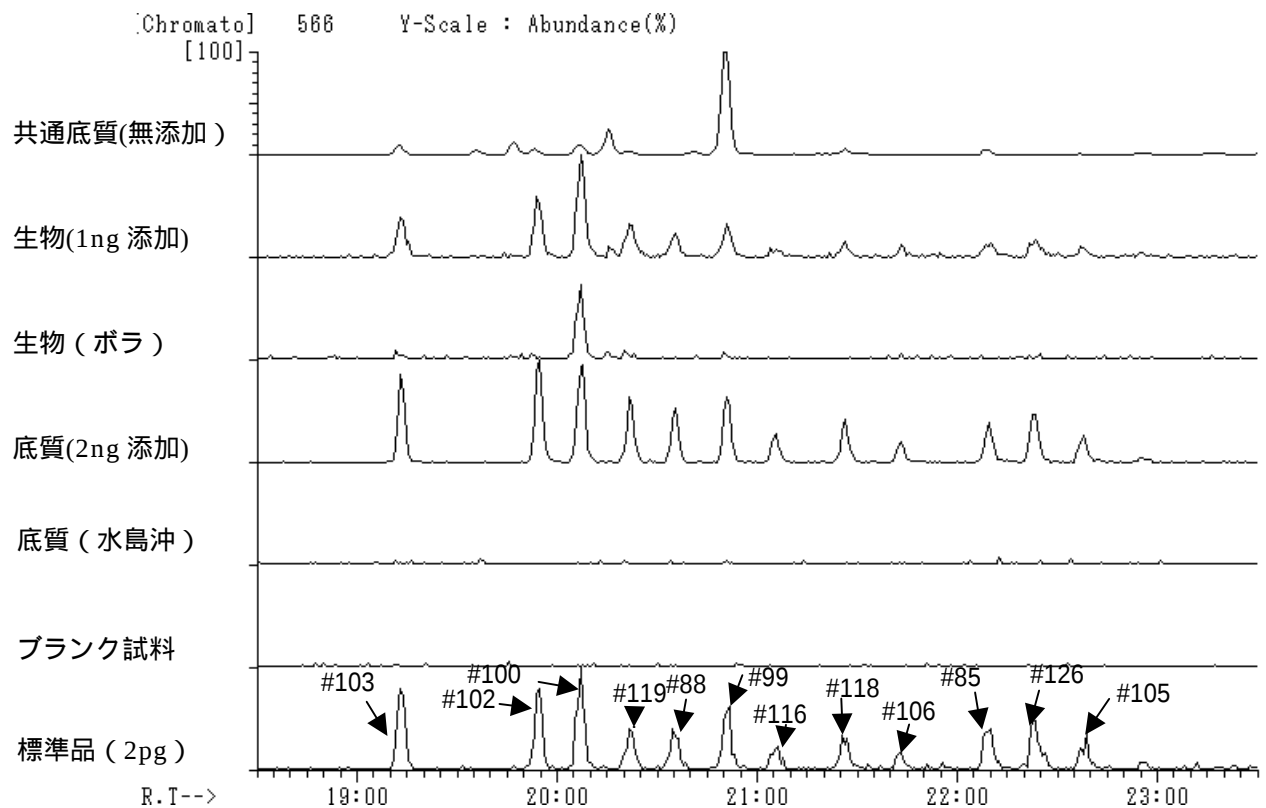
T3BDE標準2pg/inj

有機塩素系農薬



〔環境試料分析例〕

環境試料（湿泥及び生物 20g）を分析し、得られたクロマトグラムを以下に示す。



【評価】

本法により環境底質及び生物試料中のペンタブロモジフェニルエーテルを数十 pg/g レベルで分析することが可能である。

採取試料及び試料液の輸送

分析担当機関と、予め試料の採取日と送付日を協議する。

試料採取後、直ちに送付する。

【水質】

試料瓶はアセトンで洗浄後乾燥した褐色ガロン瓶（3L）を用い、試料瓶を試料水で2～3回共洗いした後、ヘッドスペースを少し残して採取し、冷蔵便で送付する。

【底質、生物】

均一化した試料を200ml 褐色耐熱ねじ口瓶（ねじ規格45程度、PTFE張りパッキン付）に採取し、冷蔵便で送付する。

参考文献

- 1) 平成7年度化学物質分析法開発報告書（デカブロモジフェニルエーテル；大阪府公害監視センター），214-231，1996
- 2) 環境庁保健調査室：昭和61年度化学物質分析法開発報告書（ブロモジフェニルエーテル（ヘキサ，オクタ，デカ）；岡山県環境保健センター），73-84，1987
- 3) 崔 宰源，森田昌敏：臭素化難燃剤による環境汚染：近年の傾向，環境化学，Vol.11，No.4，P773-783，2001
- 4) 平成14年度化学物質分析法開発調査報告書（ポリ塩化ナフタレン及びポリ塩化ビフェニルの同時分析法；岡山県環境保健センター），48-171，2003
- 5) 平成14年度化学物質分析法開発調査報告書（ヘキサブロモビフェニル；岡山県環境保健センター），202-224，2003
- 6) 平成13年度化学物質分析法開発調査報告書（ポリ塩化ターフェニル；岡山県環境保健センター），83-112，2002

担当：岡山県環境保健センター

住所：〒701-0298

岡山市内尾739-1

TEL：(086) 298-2681

FAX：(086) 298-2088

担当者氏名：杉山広和、劔持堅志

Pentabromodiphenylether

Abstract

A wet sediment or biological sample(20g) spiked with pentabromodiphenylether- $^{13}\text{C}_{12}$ was extracted and centrifuged twice with 50ml acetone. The acetone extract was diluted with 40ml ethanol and evaporated to about 25ml. The solution was saponified with 25ml KOH/ethanol solution (1mol/L) for 1 hour at room temperature. The solution was diluted with 50mL water and extracted twice with 50ml hexane. The hexane phase was dehydrated with anhydrous sodium sulfate and repeatedly treated with 5ml sulfuric acid, until the dark brown color of the sulfuric acid phase disappeared. The hexane phase was washed with 5%NaCl solution and dehydrated with anhydrous sodium sulfate and concentrated to 0.5ml. The solution was filtrated with a filter syringe and concentrated to 0.5ml. The concentrated solution was loaded to GPC column and then fractionated for 15 to 18 minutes. The fractional solution was concentrated to 0.5mL replacing from acetone solution to hexane solution and loaded to Silicagel cartridge column (1g) and then eluted with 10ml hexane. In the case of Biological sample, Florisil cartridge column (1g) was used instead of Silicagel cartridge column. The solution was evaporated to 0.1ml , added internal standard, and measured by GC/HRMS-SIM.

Flow chart of analytical method

Sediment or biological sample

