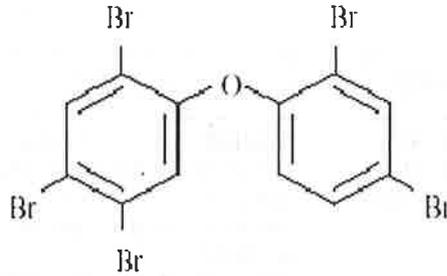


ペンタブロモジフェニルエーテル

Pentabromodiphenylether

(別名 PeBDE)

【対象物質の構造】



CAS 番号 : 32534-81-9 (Pentabromodiphenyl ether

Pentabromodiphenyl oxide, 1,1'-oxybis-pentabromo-benzene)

分子式 : $C_{12}H_5Br_5O$

*ペンタブロモジフェニルエーテルには臭素の置換位置により異性体が 46 種類存在するが、構造、については 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99)の内容を記載した。

【物理化学的性状】

分子量	沸点 (°C)	蒸気圧 (kPa)	水溶解度 (mg/L)	log P _{ow}
564.75	>300* ¹	1.24 (22 °C)* ¹	9×10^{-7} (20 °C)* ¹	6.64-6.97* ¹

*1: Brominated diphenylethers EHC 162, 1994

Great Lakes Chemical Corporation (undated a); Kalk (1982);Kopp (1990); US EPA (1989); Hallenbeck (1993); US Testing Comp.(1985).

【毒性、用途】

毒性 : ラット 経口 LD₅₀ : 7400 mg/kg (male) 5800 mg/kg (female)
用途 : ABS 樹脂、ポリウレタンフォームなどの難燃剤

§1 分析法

(1) 分析法概要

・母乳試料

母乳試料に飽和シュウ酸カリウム水溶液、ジエチルエーテルおよび 50%エタノール/ヘキサンを加え、振とう抽出を行う（計 2 回。但し 2 回目はヘキサン）。ヘキサン抽出液を 5%塩化ナトリウム水溶液で水洗後、脱水ろ過を行い、ロータリーエバポレーターを用いて濃縮する。脂肪重量の測定後、一定量に定容し、粗抽出液とする。

粗抽出液の一部を分取して多層シリカゲルカラム(注 1)によりクリーンアップを行い、GC/HRMS-SIM を用いて分析を行う。

・血液（全血）試料（母体血および臍帯血）

母体血および臍帯血試料に飽和硫酸アンモニウム水溶液および 25%エタノール/ヘキサンを加え、振とう抽出を行う（計 3 回。但し 2、3 回目はヘキサン）。ヘキサン抽出液をヘキサン洗浄水で洗浄後、脱水ろ過を行い、ロータリーエバポレーターを用いて濃縮する。脂肪重量の測定後、一定量に定容し、粗抽出液とする。

粗抽出液の一部を分取して多層シリカゲルカラム(注 1)によりクリーンアップを行い、GC/HRMS-SIM を用いて分析を行う。

なお、試料の取扱いに関しては「ヒト生体試料の取扱いに関する倫理指針（暫定版）」（平成 18 年 11 月 環境省環境保健部環境安全課）および「ヒト生体試料の取扱いに関する指針」（平成 18 年 11 月 環境省環境保健部環境安全課）に準拠して実施する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

2,2',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#47) : Wellington Laboratories 製 50 µg/mL

2,2',4,4',5-Pentabromodiphenylether (#99) : Wellington Laboratories 製 50 µg/mL

2,2',4,4',6-Pentabromodiphenylether (#100) : Wellington Laboratories 製 50 µg/mL

2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenylether (#153) : Wellington Laboratories 製 50 µg/mL

2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenylether (#154) : Wellington Laboratories 製 50 µg/mL

サロゲート物質

2,2',4,4'-Tetrabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#47) : Wellington Laboratories 製 50 µg/mL

2,2',4,4',5-Pentabromo[¹³C₁₂] diphenylether (#99) : Wellington Laboratories 製 50 µg/mL

2,2',4,4',5,5'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether(#153) : Wellington Laboratories 製 50 µg/mL

2,2',4,4',5,6'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether(#154) : Wellington Laboratories 製 50 µg/mL

内標準物質

2,2',3,4,4',5'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#138) : Wellington Laboratories 製 50 µg/mL
その他各種異性体の標準品や、混合調製品も Wellington Laboratories 製または Cambridge Isotope Laboratories 製、AccuStandard 製で利用可能である(注 2)。

市販の工業製品のペンタブロモジフェニルエーテル(PeBDE)は 3 臭素化体、4 臭素化体、5 臭素化体、6 臭素化体の臭素化ジフェニルエーテル(PBDEs)の混合物である。工業製品の DE-71TM (Great Lakes Chemical 社)では Penabromodiphenylether (PeBDEs) : 50-62 %、Tetrabromodiphenylether (TeBDEs) : 24-38%、Hexabromodiphenylether (HxBDEs) : 4-12%、Tribromodiphenylether (TrBDEs) : 0-1%を含んでいる。また個別異性体では 2,2',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#47), 2,2',4,4',5-Pentabromodiphenylether (#99), 2,2',4,4',6-Penabromodiphenylether (#100) が主な成分であり、2,2',3,4,4'-Penabromodiphenylether (#85), 2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenylether (#153), 2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenylether (#154)も少量含まれている(注 3)。従って、本分析法のペンタブロモジフェニルエーテルとしての測定対象成分は、Tetrabromodiphenylether、Pentabromodiphenylether、Hexabromodiphenylether の同族体を対象とする。

アセトン、エタノール、ヘキサン、ジクロロメタン : 和光純薬製 ダイオキシシン類
分析用または関東化学製 残留農薬試験用 (5000 倍濃縮)

ジエチルエーテル、アセトニトリル : 関東化学製 残留農薬試験用 (5000 倍濃縮)

硫酸アンモニウム、シュウ酸カリウム : 試薬特級

デカン、ジメチルスルホキシド、水酸化カリウム : 試薬特級

塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム : 残留農薬試験用

メタノール : HPLC 用

濃硫酸 : 精密分析用

活性化シリカゲル : Merck 製シリカゲル 60 (63~200 µm)をメタノールで洗浄して減圧乾燥後、130°Cで 4 時間活性化したもの。

22%(w/w)H₂SO₄ コーティングシリカゲル : 活性化シリカゲル 234 g に濃硫酸 66 g を加え、約 40 分間振とうし、コーティングしたもの。

44%(w/w)H₂SO₄ コーティングシリカゲル : 活性化シリカゲル 224 g に濃硫酸 176 g を加え、約 40 分間振とうし、コーティングしたもの。

2%(w/w)KOH コーティングシリカゲル : メタノールで洗浄して減圧乾燥後のシリカゲル 196 g にエタノール約 80 mL を加えシリカゲルの固まりがなくなるまで振とうし、水酸化カリウム 4 g をヘキサン洗浄

水約 20 mL に溶かした溶液をさらに加えて振とう後、ロータリーエバポレーターを用いて約 3 時間減圧乾燥したもの。

フロリジル PR : 150~250 μm (60~100 mesh) 130 °C で 5 時間活性化したもの。

ヘキサン洗浄水 : 蒸留水 2 L とヘキサン 100 mL を 3 L 分液ロートに入れ 15 分間振とう機で振とうし、一晚静置後の水層。

【試薬の安定性・毒性】

有害性が高いため、暴露されないよう取扱いに注意する。

一般に有機臭素系化合物は光分解が起こりやすいため、標準品および試料は褐色ガラスを用いるか、アルミホイル等で遮光する。分析室内も紫外線カットの蛍光灯を用いる等して光分解が起きないように注意する。

【器具】

天秤 : 0.1 mg の感度の電子天秤を用いる。

乾燥機 : ガラス製品及び試薬類を加熱処理する。

ロータリーエバポレーター (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抽出に用いる。

マイクロシリンジ (25 μL 、250 μL) : サロゲート及び内標準物質の添加に用いる。

カラムクロマト管 (内径 15 mm 長さ 35 cm、内径 13 mm 長さ 35 cm)

スキューブ型分液ロート (100 mL、300 mL)、ナス型フラスコ (10 mL、300 mL)、ネジ口試験管 (10 mL、25 mL)、メスシリンダー (20 mL、50 mL、100 mL)、メスフラスコ、パスツールピペット、褐色バイアル

ロート : 直径 90 mm ガラス製 脱水ろ過に用いる。

ガラス器具類は使用前にアセトン及びヘキサンで洗浄し、乾燥して用いる。ガラス器具類は褐色が望ましい。

(3) 分析法

【試料の採取及び保存】

提供を受けた試料は分析を行うまで、冷凍保存する。

試料の取扱いに関しては「ヒト生体試料の取扱いに関する倫理指針 (暫定版)」(平成 18 年 11 月 環境省環境保健部環境安全課) および「ヒト生体試料の取扱いに関する指針」(平成 18 年 11 月 環境省環境保健部環境安全課) に準拠して実施する。その他は環境省「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。

【試料の前処理及び試料液の調製】

[母乳試料の抽出]

試料を解凍（前日又は、当日室温に戻す）後、電子天秤に分液ロートを乗せる台（プラスチック製の広口容器：フロリジルの空容器などを利用）と 100 mL スキープ型分液ロートを乗せ、風袋引きした後、パストゥールピペットを用いて母乳試料 5 g を秤量する。100 mL スキープ型分液ロートにサロゲート物質 {2,2',4,4'-Tetrabromo[¹³C₁₂]diphenylether(#47) (10 ng/mL), 2,2',4,4',5-Pentrabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#99) (10 ng/mL), 2,2',4,4',5,5'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#153) (20 ng/mL), 2,2',4,4',5,6'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#154) (20ng/mL)} を 100 µL (1 ng 及び 2 ng) 添加し、攪拌する。サロゲート物質の添加量は、各化合物の装置の感度と分割比によるため、あらかじめ必要な量を確認しておく。

飽和シュウ酸カリウム水溶液 2 mL、ジエチルエーテル 10 mL、および 50%エタノール/ヘキサン 20 mL を加えた後 30 分間、液/液振とう抽出を行う。静置後、下層の水層を別の分液ロートに移し、新たにヘキサン 20 mL 加えて、再度 30 分間振とう抽出を行う。静置後、計 2 回の抽出によるヘキサン層を合わせ、5%塩化ナトリウム水溶液を 20 mL 加え水洗する。水層を除去した後、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水ろ過(注 4)を行い、ロータリーエバポレーターを用いて約 2 mL まで濃縮後、必要に応じて脂肪重量測定を行う。

〔血液試料の抽出〕

試料を解凍（前日又は、当日室温に戻す）後、電子天秤に分液ロートを乗せる台（プラスチック製の広口容器：シリカゲルの空容器などを利用）と 300 mL スキープ型分液ロートを乗せ、風袋引きした後、パストゥールピペットを用いて母体血試料 20 g（臍帯血：30g）を秤量する。300 mL スキープ型分液ロートにサロゲート物質 {2,2',4,4'-Tetrabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#47) (10 ng/mL), 2,2',4,4',5-Pentrabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#99) (10 ng/mL), 2,2',4,4',5,5'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#153) (20 ng/mL), 2,2',4,4',5,6'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#154) (20ng/mL)} を 100 µL (1 ng 及び 2 ng) 添加し、攪拌する。サロゲート物質の添加量は、各化合物の装置の感度と分割比によるため、あらかじめ必要な量を確認しておく。

飽和硫酸アンモニウム 12 mL（臍帯血：18 mL）、および 25 %エタノール/ヘキサン 48 mL（臍帯血：72 mL）を加えた後 30 分間、液/液振とう抽出を行う。静置後、下層の水層を別の分液ロートに移し、新たにヘキサン 40 mL（臍帯血：60 mL）加えて、再度 30 分間振とう抽出を行う。この操作を繰り返し、計 3 回の抽出によるヘキサン層を合わせ、ヘキサン洗浄水 40 mL（臍帯血：60 mL）加え水洗する。水層を除去した後、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水ろ過(注 4)を行い、ロータリーエバポレーターを用いて約 2 mL まで濃縮後、必要に応じて脂肪重量測定を行う。

〔脂肪重量測定〕（必要に応じて）

あらかじめ 105 °C で 3 時間加熱、放冷し、0.1 mg の単位まで重量を測定した 10 mL

ナス型フラスコに濃縮液を少量のヘキサンで洗いこみ、ロータリーエバポレーターを用いて溶媒を慎重に留去する。水及び溶媒が完全でないことを確認し、ナス型フラスコの外側をよくふいた後、0.1 mg の単位まで重量を測定する。前後の重量差から試料中の脂肪量を算出する。天秤は前処理室に設置する。

[抽出液の精製]

重量測定後、ヘキサンに溶解させネジ口試験管に洗いこみ、10 mL に定容した後、試料を測定用に分割する。なお、分割比は装置の感度により異なるため、あらかじめ分割比を確認しておく。

多層シリカゲルカラムクリーンアップ

10 mL に定容した抽出液を 1 mL 分取して多層シリカゲルカラム(注 1)に負荷し、10 %ジクロロメタン/ヘキサン 60 mL で溶出させる。溶出液をロータリーエバポレーターで約 5 mL まで濃縮し、ヘキサンを用いて試験管に洗いこんだ後、窒素気流で少量まで濃縮する。GC/MS 測定用の褐色バイアルに、内標準物質(2,2',3,4,4',5'-Hexabromo [¹³C₁₂]diphenylether #138) 50 ng/mL を 10 µL (0.5ng)添加し、濃縮した試料を慎重に移し替えさらに試験管を少量のヘキサンで洗いこみ、ゆるやかな窒素気流で濃縮してヘキサンを除去した後、デカンを加えて 20 µL とし測定試料液とする。

なお、以上のクリーンアップでも測定試料液の精製が不十分な場合は多層シリカゲルカラムによるクリーンアップを行った後に、ジメチルスルホキシド(DMSO)/ヘキサン分配による処理を追加(注 5)し、上記と同様に内標準物質を添加して測定試料液とする。

ジメチルスルホキシド(DMSO)/ヘキサン分配 (試験管での操作方法)

DMSO はヘキサンで飽和して使用する(3 L 分液ロートに、DMSO 1000 mL 及びヘキサン 100 mL を入れ、振とう機で 15 分間振とうした後、静置し、DMSO 層をヘキサン飽和 DMSO として使用する)。

250 mL 容のデュラン瓶等に塩化ナトリウム 75 g とヘキサン洗淨水 150 mL を入れてよく振り混ぜ、飽和塩化ナトリウム水溶液を作成する。使用時には溶解残りの塩化ナトリウムがあるかを確認して使用する。

多層シリカゲルカラムからの溶出液をロータリーエバポレーターで約 5 mL まで濃縮した後、10 mL ネジ口試験管に移し、窒素気流で 1 mL 程度になるまで濃縮(ジクロロメタンを除く為)し、ヘキサンを加えて 2 mL とする。

ヘキサン飽和 DMSO を 2.5 mL 加える。ネジ口試験管に栓をし、手振りで約 10 秒間振とうする。静置後、二層に分かれてから、パストゥールピペットを用いて下層の DMSO を 25 mL ネジ口試験管に移す(ペンタブロモジフェニルエーテルはこの DMSO 層に含まれている)。この操作を合計 4 回行い、ペンタブロモジフェニルエーテルを DMSO

に分配する。

DMSO (合計約 10 mL)を移し込んだ 25 mL ネジ口試験管に、ヘキサン洗浄水 10 mL と飽和塩化ナトリウム水溶液 1 mL を加える(DMSO と水は混ざる)。

さらにヘキサン 2 mL を加えて試験管に栓をし、手振りで約 10 秒間振とうする(DMSO と水が混ざることによりペンタブロモジフェニルエーテルはヘキサンへ分配される)。静置後、二層に分かれてから、パストゥールピペットを用いて上層のヘキサンを新たに用意した 10 mL ネジ口試験管に移す(ペンタブロモジフェニルエーテルはこのヘキサン層に含まれている)。この操作を合計 3 回行いヘキサンに逆分配する。

ヘキサン溶液の入った 10 mL ネジ口試験管に、ヘキサン洗浄水 2 mL を加える。試験管に栓をし、手振りで約 10 秒間振とうする(ヘキサン溶液中に残留している DMSO を水へ分配する)。静置後、二層に分かれてから、上層のヘキサン溶液を無水硫酸ナトリウムで脱水する。試料は濃縮後、内標準物質を添加した GC/MS 測定用の褐色バイアルにヘキサンで移し替え、窒素気流で濃縮してヘキサンを除去した後、デカンを加えて 20 μ L とし測定試料液とする。

フロリジルカラムクリーンアップ (参考 POPs との同時分析の場合)

あらかじめ活性化 (130 $^{\circ}$ C、約 5 時間乾燥) したフロリジル 8 g をヘキサンに懸濁し、カラムクロマト管 (内径 13 mm 長さ 35 cm ガラス製 ; ストップコック付き) の上下に無水硫酸ナトリウムをはさんでフロリジルを湿式充填する。20 ジクロロメタン/ヘキサン 80 mL でカラムを洗浄した後、300 mL のナス型フラスコをセットし、試料液をカラムに負荷する。クロマト管の液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げた後、少量の 20 %-ジクロロメタン/ヘキサンで数回濃縮容器およびカラムの壁面を洗いながら試料をカラムに負荷する。20 %ジクロロメタン/ヘキサン 80 mL で目的成分を溶出する (画分 1)。ナス型フラスコを取り替え、さらにジクロロメタン 80 mL で溶出を継続する (画分 2)。画分 1 をロータリーエバポレーターで約 5 mL まで濃縮し、ヘキサンを用いて試験管に洗いこんだ後、窒素気流で少量まで濃縮する。GC/MS 測定用の褐色バイアルに、内標準物質(2,2',3,4,4',5'-Hexabromo[13 C]₁₂]diphenylether #138) 50 ng/mL を 10 μ L (0.5 ng)添加し、濃縮した試料を慎重に移し替えさらに試験管を少量のヘキサンで洗いこみ、ゆるやかな窒素気流で濃縮してヘキサンを除去した後、デカンを加えて 20 μ L とし測定試料液とする。

この操作により、ペンタブロモジフェニルエーテルは 20 %ジクロロメタン/ヘキサン (画分 1) で溶出する。参考として、ディルドリンとエンドリンとヘプタクロルエポキサイドは画分 2 に溶出し、それら以外の POPs は画分 1 に溶出する。

なお、フロリジルのロットにより溶出パターンが異なるため、必ず事前に溶出試験で確認を行った上で使用する。

【空試験液の調製】

試料を用いないで、【試料の前処理及び試料液の調製】の項に従って操作し、得られた試料液を空試験液とする。

【標準液の調製】

ペンタブロモジフェニルエーテル類各異性体{2,2',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#47)、2,2',4,4',5-Pentabromodiphenylether (#99)、2,2',4,4',6-Pentabromodiphenylether (#100)、2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenylether (#153)、及び 2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenylether (#154)}の標準溶液をデカンで希釈・混合し、2 ng/mL から 1000 ng/mL の混合標準溶液を作成する。

サロゲート物質{2,2',4,4'-Tetrabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#47)、2,2',4,4',5-Pentabromo[¹³C₁₂] diphenylether (#99)、2,2',4,4',5,5'-Hexabromo[¹³C₁₂] diphenylether (#153)及び 2,2',4,4',5,6'-Hexabromo[¹³C₁₂] diphenylether (#154)}は、デカンで希釈して 1000 ng/mL のサロゲート物質標準溶液を作成する。内標準物質(2,2',3,4,4',5'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether #138)はデカンで希釈して 50 ng/mL の溶液を作成する。

以上の溶液を混合し 0.5~200 ng/mL の 5 段階の検量線用標準溶液(サロゲート物質及び内標準物質は各々 50 及び 100 ng/mL)を作成する。

なお、調製済みの検量線用標準溶液やサロゲート物質混合標準溶液も利用可能である(注 2)。

試料に添加するサロゲート物質溶液はアセトンで希釈して 10 及び 20 ng/mL の溶液を作成する。

【試料液の保存・安定性】

一般に有機臭素系化合物は光分解が起こりやすいため、標準品および試料は褐色ガラス器具を用いるか、アルミホイル等で遮光する。分析室内も紫外線カットの蛍光灯を用いる等して光分解が起きないように注意する。

【測定】

[GC/MS 条件]

使用機器	Autospec Ultima (Waters/Micromass)
カラム	HP 6890 (Agilent) ENV-5MS 15 m × 0.25 mm I.D. (0.1 μm) (関東化学製) (5% Phenyl Polysilphenylene-siloxane)
昇温条件	120 °C (1 min) – 20 °C/min – 200 °C (0 min) – 10 °C/min – 300 °C (10 min)
注入方法	オンカラム
ガードカラム	不活性キャピラリーカラム 0.5 m × 0.53 mm I.D.
注入口温度	120 °C (0.1 min) – 100 °C/min – 300 °C (15 min)
注入量	2 μL
キャリアーガス	ヘリウム(1.0 mL/min)
イオン化法	EI
イオン化電圧	30~40 eV
トラップ電流	500 μA
加速電圧	8 kV
インターフェース温度	300 °C
イオン源温度	300°C
検出モード	SIM
分解能	M/ΔM > 10000 (10% Valley)

モニターイオン (注6)

		定量用	確認用
対象物質	Tetrabromodiphenylether	485.7112	483.7132
対象物質	Pentabromodiphenylether	565.6197	563.6216
サロゲート物質	Tetrabromo[¹³ C ₁₂]diphenylether	497.7513	495.7534
ロックマス	Perfluorokerosene	492.9697	
対象物質	Pentabromodiphenylether	565.6197	563.6216
対象物質	Hexabromodiphenylether (M-2Br)	483.6955	481.6975
サロゲート物質	Pentabromo[¹³ C ₁₂]diphenylether	577.6598	575.6618
サロゲート物質	Hexabromo[¹³ C ₁₂]diphenylether(M-2Br)	495.7357	493.7377
内標準物質	Hexabromo[¹³ C ₁₂]diphenylether(M-2Br)	495.7357	493.7377
ロックマス	Perfluorokerosene	530.9664	

[検量線]

検量線用標準液及びサロゲート物質のみを添加した溶媒ブランク 2 μL を GC/MS に導入して分析する。溶媒ブランク試料からは対象物質のピークが検出されない事を確認する。

得られる各クロマトグラムにおいて、標準物質のピーク面積をサロゲート物質のピーク面積で割って得られる面積比を計算し、検量線の縦軸とする。分析した検量線用標準溶液に含まれる標準物質の濃度をサロゲート物質の濃度で割って得られる濃度比を計算し、検量線の横軸とする。重み付けなしで、最小二乗法により、原点を通過

する一次の検量線を作成し、関係式及び寄与率 (r^2) を計算する。寄与率が 0.995 以上であることを確認する。

〔定量〕

試料液 2 μL を GC/MS に導入して分析する。以下に示す式を用いて相対感度係数 (RRF) を算出し、検量線用標準液の濃度範囲における RRF の平均を求め、定量計算に用いる。

$$\text{RRF} = \frac{A_s \times C_{is}}{A_{is} \times C_s}$$

- RRF : 相対感度係数
As : 標準液中の対象物質のピーク面積
Ais : 標準液中のサロゲート物質のピーク面積
Cs : 標準液中の対象物質の濃度 (pg/ μL) または注入量 (pg)
Cis : 標準液中のサロゲート物質の濃度 (pg/ μL) または注入量 (pg)

本分析法では、ペンタブロモジフェニルエーテル各異性体や他の PBDE 同族体のイオン強度に大きな差が見られる場合がある。標準品に対応する異性体（標準品が入手できた異性体）については上記計算で求めた個々の相対感度係数 (RRF) を用い、その他のペンタブロモジフェニルエーテル等については、構造の類似した溶出位置の近いものを用いる他、平均の RRF を用いて対象物質濃度を算出する (注 7)。

〔濃度の算出〕

RRF を用いて、以下の式から定量値を求める。

$$\text{濃度 (pg/g)} = \frac{A \times C_{is}}{A_{is} \times \text{RRF}} \times \frac{1}{W}$$

- A : 対象物質のピーク面積
Ais : サロゲート物質のピーク面積
Cis : サロゲート物質の添加量 (pg)
RRF : 相対感度係数
W : 試料量 (g)

脂肪重量換算濃度が必要な場合は、上記の結果 (湿重量当たりの結果) を脂肪含量 (%) で割算して算出する。

$$\text{脂肪重あたり濃度 (pg/g (lipid))} = \frac{\text{湿重量あたり濃度}}{\text{脂肪含量(\%)}} \times 100$$

[装置検出下限(IDL)]

本分析に用いた GC/HRMS の IDL を以下に示す(注 8)。

[母乳]

物質	IDL (pg)	試料量 (g)	IDL 試料換算値 (pg/g)
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#47)	0.024	5	0.47
2,2',4,5'-Tetrabromodiphenylether (#49)	0.022	5	0.45
2,3',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#66)	0.041	5	0.81
2,3',4',6-Tetrabromodiphenylether (#71)	0.040	5	0.79
3,3',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#77)	0.027	5	0.53
2,2',3,4,4'-Pentabromodiphenylether (#85)	0.052	5	1.0
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenylether (#99)	0.043	5	0.85
2,2',4,4',6-Pentabromodiphenylether (#100)	0.042	5	0.84
2,3',4,4',6-Pentabromodiphenylether (#119)	0.043	5	0.85
3,3',4,4',5-Pentabromodiphenylether (#126)	0.069	5	1.4
2,2',3,4,4',5'-Hexabromodiphenylether (#138)	0.067	5	1.3
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenylether (#153)	0.051	5	1.0
2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenylether (#154)	0.087	5	1.7
2,3,3',4,4',5-Hexabromodiphenylether (#156)	0.061	5	1.2

[血液]

物質	IDL (pg)	試料量 (g)	IDL 試料換算値 (pg/g)
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#47)	0.024	20	0.12
2,2',4,5'-Tetrabromodiphenylether (#49)	0.022	20	0.11
2,3',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#66)	0.041	20	0.20
2,3',4',6-Tetrabromodiphenylether (#71)	0.040	20	0.20
3,3',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#77)	0.027	20	0.13
2,2',3,4,4'-Pentabromodiphenylether (#85)	0.052	20	0.26
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenylether (#99)	0.043	20	0.21
2,2',4,4',6-Pentabromodiphenylether (#100)	0.042	20	0.21
2,3',4,4',6-Pentabromodiphenylether (#119)	0.043	20	0.21
3,3',4,4',5-Pentabromodiphenylether (#126)	0.069	20	0.35
2,2',3,4,4',5'-Hexabromodiphenylether (#138)	0.067	20	0.33
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenylether (#153)	0.051	20	0.25
2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenylether (#154)	0.087	20	0.44
2,3,3',4,4',5-Hexabromodiphenylether (#156)	0.061	20	0.31

[測定方法の検出下限(MDL)、定量下限(MQL)]

本測定方法における MDL 及び MQL を以下に示す(注 9)。

[母乳]

物質	試料量 (g)	検出下限値 (pg/g)	定量下限値 (pg/g)
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#47)	5	4.4	12
2,2',4,5'-Tetrabromodiphenylether (#49)	5	0.44	1.2
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenylether (#99)	5	0.97	2.6
2,2',4,4',6-Pentabromodiphenylether (#100)	5	1.0	2.8
2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenylether (#154)	5	1.1	2.9

[血液]

物質	試料量 (g)	検出下限値 (pg/g)	定量下限値 (pg/g)
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#47)	20	0.20	0.53
2,2',4,5'-Tetrabromodiphenylether (#49)	20	0.095	0.25
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenylether (#99)	20	0.20	0.55
2,2',4,4',6-Pentabromodiphenylether (#100)	20	0.33	0.88
2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenylether (#154)	20	0.36	0.96

注 解

(注 1)

本分析法の多層シリカゲルカラムには 2%(w/w)KOH、22%及び 44%(w/w)H₂SO₄ コーティングシリカゲルを用いる。硝酸銀(AgNO₃)コーティングシリカゲルを用いた場合、PCB の低塩素化体や一部の PBDEs 等の回収が低下する事がある為¹⁾、原則として用いない。もし用いる場合には事前に確認を行った上で使用する(特に PeBDE #116 の確認を行うこと¹⁾)。また、市販の多層シリカゲルカラムやカートリッジカラムを使用する場合には、メーカーやロットにより溶出パターンが異なるため、事前に溶出試験で確認を行った上で使用する。

ピンセットでヘキサン洗浄綿を適量とり、カラムクロマト管(内径 15 mm 長さ 35 cm ガラス製; ストップコック付き)に入れ底部に詰める。溶媒を流したときにコックに気泡が入らないように針金等で詰める。

カラムクロマト管に以下の順序で下から順に各充填材を乾式充填する。

・ 無水硫酸ナトリウム	1 cm (厚さ)	下側	
・ 活性化シリカゲル	0.5 g	↓	
・ 2%(w/w)KOH コーティングシリカゲル	0.5 g		
・ 活性化シリカゲル	0.5 g		
・ 44%(w/w)H ₂ SO ₄ コーティングシリカゲル	5.0 g		
・ 22%(w/w)H ₂ SO ₄ コーティングシリカゲル	3.0 g		
・ 活性化シリカゲル	0.5 g		
・ 無水硫酸ナトリウム	1 cm (厚さ)		上側

この際、各充填材の上面が平面になるよう充填していく。充填後、10%ジクロロメタン/ヘキサン 60 mL で洗浄を行い、クロマト管の液面を無水硫酸ナトリウム層の上端まで下げてから試料の負荷を行う。

(注 2)

市販の調製済みサロゲート物質混合標準溶液(MBDE-MXE、Wellington Laboratories 製など)や検量線用標準溶液(BDE-CVS-E、Wellington Laboratories 製など)(表 1)を使用すると簡便である。

表 1 調製済み混合標準溶液の例

BDE-CVS-E		ng/mL, in nonane				
IUPAC#	BDE-MXE	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5
3	4-Bromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
7	24-Dibromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
15	44'-Dibromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
17	22'4'-Tribromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
28	244'-Tribromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
47	22'44'-Tetrabromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
49	22'45'-Tetrabromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
66	23'44'-Tetrabromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
71	23'4'6'-Tetrabromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
77	33'44'-Tetrabromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
85	22'344'-Pentabromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
99	22'44'5'-Pentabromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
100	22'44'6'-Pentabromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
119	23'44'6'-Pentabromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
126	33'44'5'-Pentabromodiphenyl ether	1.0	5	20	100	400
138	22'344'5'-Hexabromodiphenyl ether	2.0	10	40	200	800
153	22'44'55'-Hexabromodiphenyl ether	2.0	10	40	200	800
154	22'44'56'-Hexabromodiphenyl ether	2.0	10	40	200	800
156	233'44'5'-Hexabromodiphenyl ether	2.0	10	40	200	800
183	22'344'5'6'-Heptabromodiphenyl ether	2.0	10	40	200	800
184	22'344'66'-Heptabromodiphenyl ether	2.0	10	40	200	800
191	233'44'5'6'-Heptabromodiphenyl ether	2.0	10	40	200	800
196	22'33'44'56'-Octabromodiphenyl ether	2.0	10	40	200	800
197	22'33'44'66'-Octabromodiphenyl ether	2.0	10	40	200	800
206	22'33'44'55'6'-Nonabromodiphenyl ether	5.0	25	100	500	2000
207	22'33'44'566'-Nonabromodiphenyl ether	5.0	25	100	500	2000
209	Decabromodiphenyl ether	5.0	25	100	500	2000
	MBDE-MXE					
3L	4-Bromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	100	100	100	100	100
15L	44'-Dibromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	100	100	100	100	100
28L	244'-Tribromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	100	100	100	100	100
47L	22'44'-Tetrabromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	100	100	100	100	100
99L	22'44'5'-Pentabromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	100	100	100	100	100
153L	22'44'55'-Hexabromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	200	200	200	200	200
154L	22'44'56'-Hexabromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	200	200	200	200	200
183L	22'344'5'6'-Heptabromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	200	200	200	200	200
197L	22'33'44'66'-Octabromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	200	200	200	200	200
207L	22'33'44'566'-Nonabromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	500	500	500	500	500
209L	Decabromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	500	500	500	500	500
	BDE-CVS-EISS					
138L	22'344'5'-Hexabromo[¹³ C ₁₂]diphenyl ether	200	200	200	200	200

(注3)

市販の工業製品のペンタブロモジフェニルエーテル Penta-BDE (DE-71TM, Great Lakes Chemical 社)の主要な異性体とその存在割合を括弧付で示した SIM クロマトグラムを図1に示す。工業製品で見られる異性体パターンと、ヒト生体で確認されるパターンは異なっており(図8-1、図9-1)、工業製品に少量含まれる2,2',3,4,4'-PeBDE (#85)はヒト生体試料中ではほとんど検出されない。以上のことから、本分析法における測定対象の異性体は2,2',4,4'-TeBDE (#47), 2,2',4,4',5-PeBDE (#99), 2,2',4,4',6-PeBDE(#100), 2,2',4,4',5,5'-HxBDE (#153), 2,2',4,4',5,6'-HxBDE (#154)とした。

(注4)

ロートに少量のヘキサン洗浄綿を詰め無水硫酸ナトリウムを約 50 g 入れロートの端より内壁をつたうようにヘキサン約 5 mL を3回流し洗浄する。この時の洗液は廃棄する。

洗浄後の無水硫酸ナトリウムに抽出液を滴下して脱水ろ過をする。抽出液が入っていたフラスコの内壁をヘキサン約 5 mL で3回洗い、洗液も脱水ろ過する。

さらに、ロートの端より内壁をつたうようにヘキサン約 5 mL で3回洗い流す。

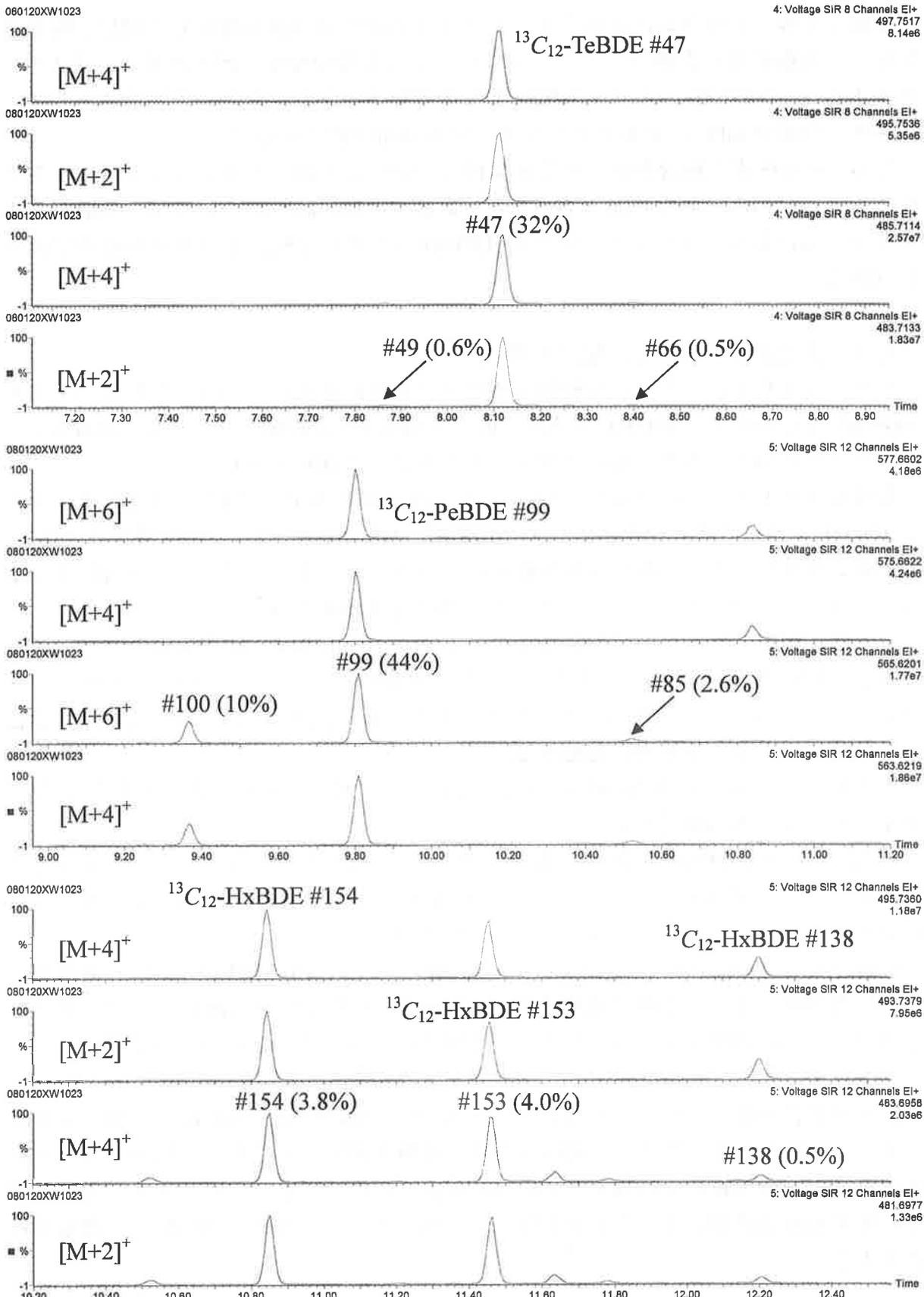


図1 ペンタブロモジフェニルエーテル工業製品(DE-71TM)のクロマトグラム

(注 5)

多層シリカゲルカラムによるクリーンアップのみで試料液を測定した時に、除去されなかった脂質等の影響でピークがブロードになる等の現象が起きた場合、ジメチルスルホキシド(DMSO)/ヘキサン分配による処理を追加する。また、アセトニトリル/ヘキサン分配や GPC によるクリーンアップも利用可能である¹⁾。

なお、本分析法で検討を行った母乳試料については多層シリカゲルカラムによるクリーンアップのみで測定可能であったが、血液(全血)試料については、多層シリカゲルカラムによるクリーンアップの後、DMSO/ヘキサン分配による処理が必要であった(図 2)。

アセトニトリル/ヘキサン分配 (参考)

アセトニトリルはヘキサンで飽和して使用する(3 L 分液ロートに、アセトニトリル 1000 mL 及びヘキサン 100 mL を入れ、振とう機で 15 分間振とうした後、静置し、アセトニトリル層をヘキサン飽和アセトニトリルとして使用する)。

蒸留水はヘキサンで洗浄したもの(ヘキサン洗浄水)を使用する(蒸留水 2 L とヘキサン 100 mL を 3 L 分液ロートに入れ 15 分間振とう機で振とうし、一晚静置後の水層)。

多層シリカゲルカラムからの溶出液をロータリーエバポレーターで約 5 mL まで濃縮した後、分液ロート①に移しヘキサンを加えて 10 mL とする。

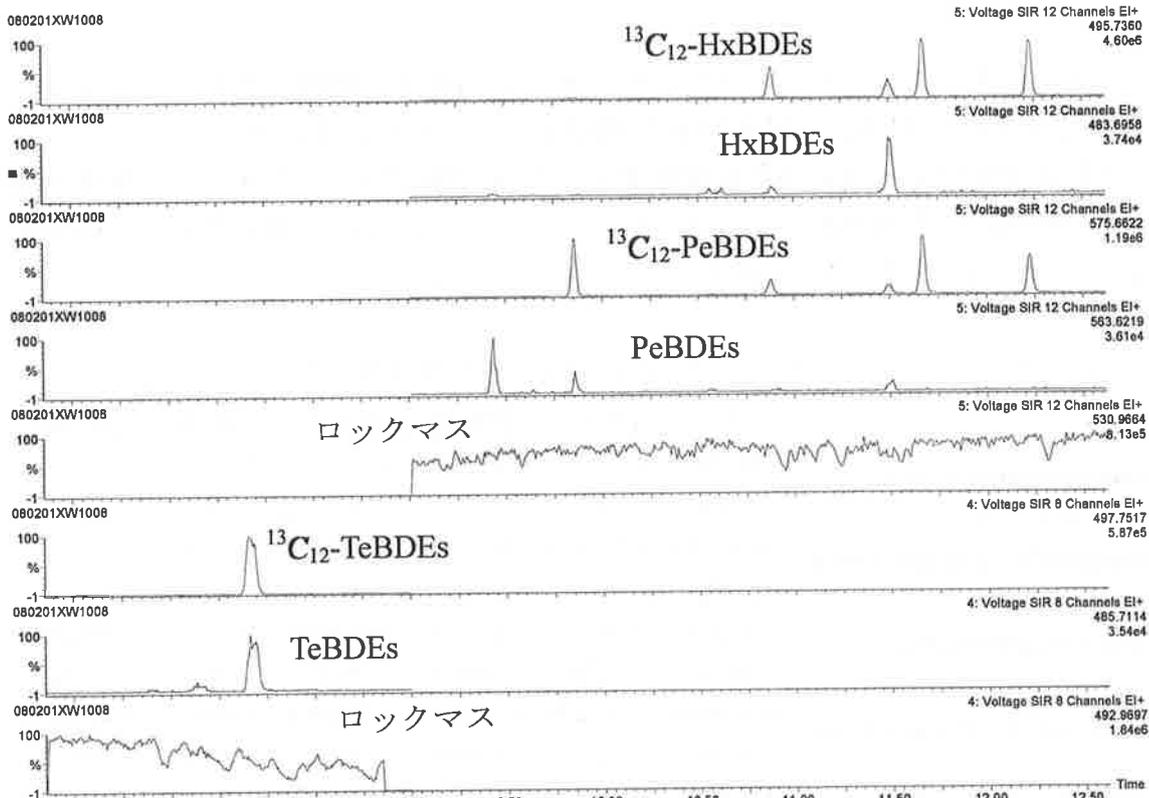
ヘキサン飽和アセトニトリルを分液ロート①に 10 mL 加え、10 分間振とうする。静置後、二層に分かれてから、分液ロート②に下層のアセトニトリル層を移す(ペンタブロモジフェニルエーテルはこのアセトニトリル層に含まれている)。この操作を合計 2 回行いアセトニトリルに分配する。

アセトニトリル(合計約 20 mL)を移した分液ロート②にヘキサン洗浄水を加える(アセトニトリルと水は混ざる)。

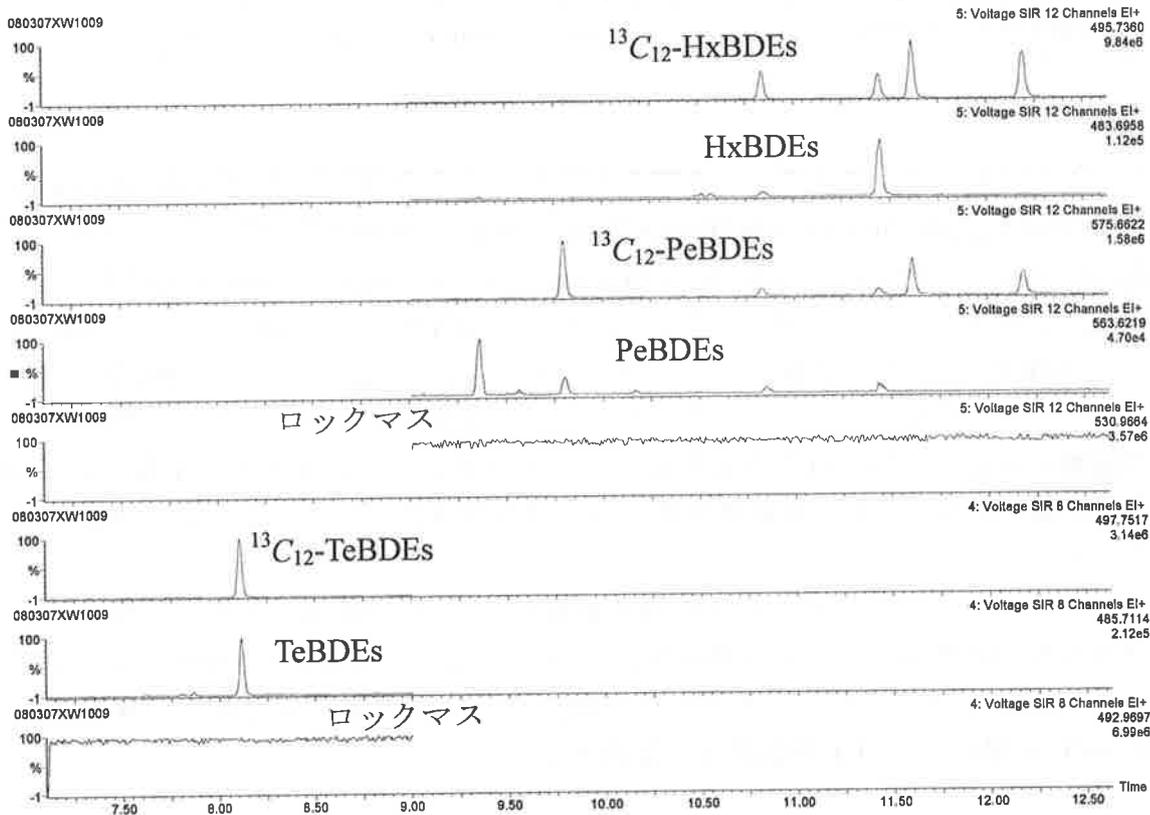
さらにヘキサン 20 mL を加えて 10 分間振とうする(アセトニトリルと水が混ざることによりペンタブロモジフェニルエーテルはヘキサンへ分配される)。静置後、二層に分かれてから、分液ロート③に下層の水層を移す。

水層の入った分液ロート③にヘキサン 20 mL を加えて 10 分間振とうする。静置後、二層に分かれてから、下層の水層を捨て、上層のヘキサン層を分液ロート②に移す。分液ロート③の内壁を少量のヘキサンで 2 回洗い、洗液も分液ロート②に移す。

ヘキサンの入った分液ロート②にヘキサン洗浄水を加えて 10 分間振とうする(ヘキサン溶液中に残留しているアセトニトリルを水へ分配する)。静置後、二層に分かれてから、下層の水層を捨て、上層のヘキサンを無水硫酸ナトリウムで脱水する。試料は濃縮後、内標準物質を添加した GC/MS 測定用の褐色バイアルにヘキサンで移し替え、窒素気流で濃縮してヘキサンを除去した後、デカンを加えて 20 μ L とし測定試料液とする。



DMSO/ヘキサン分配処理前（精製が不十分な場合）のクロマトグラム



DMSO/ヘキサン分配による処理を追加した後のクロマトグラム

図2 DMSO/ヘキサン分配処理前後の血液（全血）試料のクロマトグラム

(注 6)

ペンタブロモジフェニルエーテル、サロゲート物質及び内標準物質の分子イオンまたは開裂イオンの M-2Br の精密質量と相対イオン強度を表 2 に示す。

本分析法では分子イオンまたは開裂イオンの M-2Br の中で、相対イオン強度の強い [M+2]⁺ [M+4]⁺ 及び [M+6]⁺ のうち 2 つをモニターオンに用いて測定を行い、[M+4]⁺ を定量用に [M+2]⁺ 又は [M+6]⁺ を確認用として使用する。

表 2 各分子イオンまたは開裂イオン(M-2Br)の精密質量及び相対イオン強度

	M ⁺	[M+2] ⁺	[M+4] ⁺	[M+6] ⁺	[M+8] ⁺	[M+10] ⁺
Tetrabromodiphenylether	481.7153 18%	483.7132 68%	485.7112 100%	487.7092 65%	489.7075 16%	
Tetrabromo[¹³ C ₁₂]diphenylether	493.7555 18%	495.7534 68%	497.7513 100%	499.7493 16%	501.7474 16%	
Pentabromodiphenylether	559.6257 11%	561.6237 51%	563.6216 100%	565.6197 98%	567.6177 48%	569.6159 10%
Pentabromo[¹³ C ₁₂]diphenylether	571.6659 11%	573.6639 51%	575.6618 100%	577.6598 97%	579.6578 47%	581.6558 9%
Hexabromodiphenylether (開裂イオン M-2Br)	479.6697 17%	481.6975 68%	483.6955 100%	485.6935 65%	487.6918 16%	
Hexabromo[¹³ C ₁₂]diphenylether (開裂イオン M-2Br)	491.7398 18%	493.7377 68%	495.7357 100%	497.7336 65%	499.7317 16%	

(注 7)

ペンタブロモジフェニルエーテル類の GC カラムでの溶出順は、Cambridge Isotope Laboratories 製、Wellington Laboratories 製及び Accu Standard 製の標準品を利用して溶出範囲を推定する(Window defining solution/mixture, Wellington Laboratories 製によると TeBDE では#54 が最初に、#60 が最後に溶出し、PeBDE では#104 が最初に、#82 が最後に、HxBDE では#155 が最初に、#128 が最後に溶出する)。この溶出範囲内で検出されたピークの中で、2 つのモニターイオンの面積比率が臭素化合物の天然同位体比の理論値に対して±15%以内のものをペンタブロモジフェニルエーテル類として同定し、定量を行う。なお、高臭素化体からのフラグメンテーションによる干渉に注意すること。

ペンタブロモジフェニルエーテル類各異性体のイオン強度に大きな差が見られる場合がある。標準品に対応する異性体については個々の相対感度 (RRF) を用い、その他のペンタブロモジフェニルエーテル類については標準品が存在する異性体の平均の RRF を用いて、対象物質濃度を算出する。

(注 8)

装置検出下限(IDL)は、「化学物質環境実態調査の手引き」(平成 17 年 3 月)に従って、表 3-1~4-3 のとおり算出した。

表 3-1 母乳の装置検出下限(IDL)の算出 (TeBDEs)

対象物質名	2,2',4,4'- TeBDE (#47)	2,2',4,5'- TeBDE (#49)	2,3',4,4'- TeBDE (#66)	2,3',4',6'- TeBDE (#71)	3,3',4,4'- TeBDE (#77)
試料量(g)	5	5	5	5	5
抽出液量(mL)	10	10	10	10	10
分取量(mL)	1	1	1	1	1
最終液量(μL)	20	20	20	20	20
注入液濃度(pg/μL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
装置注入量(μL)	2	2	2	2	2
結果1 (pg)	0.201	0.221	0.186	0.190	0.206
結果2 (pg)	0.196	0.213	0.202	0.202	0.218
結果3 (pg)	0.205	0.211	0.201	0.183	0.213
結果4 (pg)	0.194	0.209	0.191	0.191	0.214
結果5 (pg)	0.215	0.200	0.208	0.190	0.208
結果6 (pg)	0.208	0.218	0.200	0.200	0.224
結果7 (pg)	0.200	0.214	0.201	0.216	0.214
結果8 (pg)	0.202	0.216	0.206	0.191	0.213
結果9 (pg)	0.202	0.212	0.225	0.182	0.229
平均値 (pg)	0.203	0.213	0.202	0.194	0.215
標準偏差	0.00634	0.00605	0.0109	0.0107	0.00716
IDL (pg)	0.024	0.022	0.041	0.040	0.027
試料換算値(pg/g)	0.47	0.45	0.81	0.79	0.53
S/N	45	35	24	30	40
CV(%)	3.1	2.8	5.4	5.5	3.3

※IDL= $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

表 3-2 母乳の装置検出下限(IDL)の算出 (PeBDEs)

対象物質名	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)
試料量(g)	5	5	5	5	5
抽出液量(mL)	10	10	10	10	10
分取量(mL)	1	1	1	1	1
最終液量(μL)	20	20	20	20	20
注入液濃度(pg/μL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
装置注入量(μL)	2	2	2	2	2
結果1 (pg)	0.193	0.192	0.208	0.210	0.215
結果2 (pg)	0.216	0.212	0.203	0.206	0.229
結果3 (pg)	0.211	0.193	0.232	0.208	0.251
結果4 (pg)	0.211	0.195	0.221	0.202	0.203
結果5 (pg)	0.207	0.205	0.205	0.182	0.231
結果6 (pg)	0.232	0.202	0.202	0.193	0.231
結果7 (pg)	0.206	0.215	0.209	0.208	0.202
結果8 (pg)	0.185	0.227	0.217	0.203	0.235
結果9 (pg)	0.195	0.210	0.195	0.223	0.194
平均値 (pg)	0.206	0.206	0.210	0.204	0.221
標準偏差	0.0140	0.0115	0.0113	0.0114	0.0186
IDL (pg)	0.052	0.043	0.042	0.043	0.069
試料換算値(pg/g)	1.0	0.85	0.84	0.85	1.4
S/N	30	42	59	39	46
CV(%)	6.8	5.6	5.4	5.6	8.4

※IDL= $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

表 3-3 母乳の装置検出下限(IDL)の算出 (HxBDEs)

対象物質名	2,2',3,4,4',5'- HxBDE (#138)	2,2',4,4',5,5'- HxBDE (#153)	2,2',4,4',5,6'- HxBDE (#154)	2,3,3',4,4',5- HxBDE (#156)
試料量(g)	5	5	5	5
抽出液量(mL)	10	10	10	10
分取量(mL)	1	1	1	1
最終液量(μL)	20	20	20	20
注入液濃度(pg/μL)	0.2	0.2	0.2	0.2
装置注入量(μL)	2	2	2	2
結果1 (pg)	0.379	0.399	0.388	0.412
結果2 (pg)	0.386	0.394	0.374	0.396
結果3 (pg)	0.392	0.378	0.420	0.424
結果4 (pg)	0.390	0.390	0.432	0.438
結果5 (pg)	0.394	0.371	0.407	0.418
結果6 (pg)	0.385	0.410	0.425	0.438
結果7 (pg)	0.373	0.390	0.364	0.393
結果8 (pg)	0.432	0.369	0.388	0.401
結果9 (pg)	0.411	0.399	0.401	0.414
平均値 (pg)	0.394	0.389	0.400	0.415
標準偏差	0.0179	0.0136	0.0235	0.0164
IDL (pg)	0.067	0.051	0.087	0.061
試料換算値(pg/g)	1.3	1.0	1.7	1.2
S/N	60	89	88	53
CV(%)	4.5	3.5	5.9	4.0

※IDL= $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

表 4-1 血液の装置検出下限(IDL)の算出 (TeBDEs)

対象物質名	2,2',4,4'- TeBDE (#47)	2,2',4,5'- TeBDE (#49)	2,3',4,4'- TeBDE (#66)	2,3',4',6'- TeBDE (#71)	3,3',4,4'- TeBDE (#77)
試料量(g)	20	20	20	20	20
抽出液量(mL)	10	10	10	10	10
分取量(mL)	1	1	1	1	1
最終液量(μL)	20	20	20	20	20
注入液濃度(pg/μL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
装置注入量(μL)	2	2	2	2	2
結果1 (pg)	0.201	0.221	0.186	0.190	0.206
結果2 (pg)	0.196	0.213	0.202	0.202	0.218
結果3 (pg)	0.205	0.211	0.201	0.183	0.213
結果4 (pg)	0.194	0.209	0.191	0.191	0.214
結果5 (pg)	0.215	0.200	0.208	0.190	0.208
結果6 (pg)	0.208	0.218	0.200	0.200	0.224
結果7 (pg)	0.200	0.214	0.201	0.216	0.214
結果8 (pg)	0.202	0.216	0.206	0.191	0.213
結果9 (pg)	0.202	0.212	0.225	0.182	0.229
平均値 (pg)	0.203	0.213	0.202	0.194	0.215
標準偏差	0.00634	0.00605	0.0109	0.0107	0.00716
IDL (pg)	0.024	0.022	0.041	0.040	0.027
試料換算値(pg/g)	0.12	0.11	0.20	0.20	0.13
S/N	45	35	24	30	40
CV(%)	3.1	2.8	5.4	5.5	3.3

※IDL= $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

表 4-2 血液の装置検出下限(IDL)の算出 (PeBDEs)

対象物質名	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)
試料量(g)	20	20	20	20	20
抽出液量(mL)	10	10	10	10	10
分取量(mL)	1	1	1	1	1
最終液量(μL)	20	20	20	20	20
注入液濃度(pg/μL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
装置注入量(μL)	2	2	2	2	2
結果1 (pg)	0.193	0.192	0.208	0.210	0.215
結果2 (pg)	0.216	0.212	0.203	0.206	0.229
結果3 (pg)	0.211	0.193	0.232	0.208	0.251
結果4 (pg)	0.211	0.195	0.221	0.202	0.203
結果5 (pg)	0.207	0.205	0.205	0.182	0.231
結果6 (pg)	0.232	0.202	0.202	0.193	0.231
結果7 (pg)	0.206	0.215	0.209	0.208	0.202
結果8 (pg)	0.185	0.227	0.217	0.203	0.235
結果9 (pg)	0.195	0.210	0.195	0.223	0.194
平均値 (pg)	0.206	0.206	0.210	0.204	0.221
標準偏差	0.0140	0.0115	0.0113	0.0114	0.0186
IDL (pg)	0.052	0.043	0.042	0.043	0.069
試料換算値(pg/g)	0.26	0.21	0.21	0.21	0.35
S/N	30	42	59	39	46
CV(%)	6.8	5.6	5.4	5.6	8.4

※IDL= $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

表 4-3 血液の装置検出下限(IDL)の算出 (HxBDEs)

対象物質名	2,2',3,4,4',5'- HxBDE (#138)	2,2',4,4',5,5'- HxBDE (#153)	2,2',4,4',5,6'- HxBDE (#154)	2,3,3',4,4',5- HxBDE (#156)
試料量(g)	20	20	20	20
抽出液量(mL)	10	10	10	10
分取量(mL)	1	1	1	1
最終液量(μL)	20	20	20	20
注入液濃度(pg/μL)	0.2	0.2	0.2	0.2
装置注入量(μL)	2	2	2	2
結果1 (pg)	0.379	0.399	0.388	0.412
結果2 (pg)	0.386	0.394	0.374	0.396
結果3 (pg)	0.392	0.378	0.420	0.424
結果4 (pg)	0.390	0.390	0.432	0.438
結果5 (pg)	0.394	0.371	0.407	0.418
結果6 (pg)	0.385	0.410	0.425	0.438
結果7 (pg)	0.373	0.390	0.364	0.393
結果8 (pg)	0.432	0.369	0.388	0.401
結果9 (pg)	0.411	0.399	0.401	0.414
平均値 (pg)	0.394	0.389	0.400	0.415
標準偏差	0.0179	0.0136	0.0235	0.0164
IDL (pg)	0.067	0.051	0.087	0.061
試料換算値(pg/g)	0.33	0.25	0.44	0.31
S/N	60	89	88	53
CV(%)	4.5	3.5	5.9	4.0

※IDL= $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

(注9)

測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)は、「化学物質環境実態調査の手引き」(平成17年3月)により、母乳及び血液(全血)についてそれぞれ表5及び表6のとおり算出した。

ヒト生体試料で微量確認される主要異性体を用いて、標準品を添加せずに実施した結果である。

表5 母乳の測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)の算出

対象物質名	2,2',4,4'-	2,2',4,5'-	2,2',4,4',5'-	2,2',4,4',6'-	2,2',4,4',5,5'-
	TeBDE (#47)	TeBDE (#49)	PeBDE (#99)	PeBDE (#100)	HxBDE (#153)
試料量 (g)	5	5	5	5	5
標準添加量 (pg)	0	0	0	0	0
試料換算濃度 (pg/g)	10.7	1.06	1.90	2.94	5.24
抽出液量 (mL)	10	10	10	10	10
分取量 (mL)	1	1	1	1	1
最終液量 (μL)	20	20	20	20	20
注入液濃度 (pg/μL)	0.27	0.03	0.05	0.07	0.13
装置注入量 (μL)	2	2	2	2	2
操作ブランク平均 ^① (pg/g)	3.54	0	1.04	0.45	0
無添加平均 ^② (pg/g)	10.7	1.06	1.90	2.94	5.24
結果1 (pg/g)	11.8	1.08	2.14	3.26	5.26
結果2 (pg/g)	9.44	1.01	1.70	2.81	5.62
結果3 (pg/g)	12.2	1.06	2.29	3.13	4.94
結果4 (pg/g)	12.4	1.34	1.99	3.07	4.85
結果5 (pg/g)	10.4	0.966	2.05	2.81	5.02
結果6 (pg/g)	10.3	0.927	1.90	2.59	5.07
結果7 (pg/g)	10.2	1.04	1.89	2.51	5.44
結果8 (pg/g)	10.0	1.12	1.66	3.25	5.38
結果9 (pg/g)	9.24	1.00	1.44	3.08	5.60
平均値 (pg/g)	10.7	1.06	1.90	2.94	5.24
標準偏差	1.17	0.118	0.262	0.276	0.288
MDL (pg/g)	4.4	0.44	0.97	1.0	1.1
MQL (pg/g)	12	1.2	2.6	2.8	2.9
S/N	152	11	19	29	37
CV (%)	11	11	14	9.4	5.5

※MDL = $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

※MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

① 操作ブランク平均:

試料マトリックスのみがない状態で他は同様の操作を行い、測定した値の平均値

② 無添加平均:

MDL 算出用試料に標準品を添加していない状態で含まれる濃度の平均値

表6 血液（全血）の測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)の算出

対象物質名	2,2',4,4'- TeBDE (#47)	2,2',4,5'- TeBDE (#49)	2,2',4,4',5'- PeBDE (#99)	2,2',4,4',6'- PeBDE (#100)	2,2',4,4',5,5'- HxBDE (#153)
試料量 (g)	20	20	20	20	20
標準添加量 (pg)	0	0	0	0	0
試料換算濃度 (pg/g)	2.96	0.196	0.491	0.986	2.74
抽出液量 (mL)	10	10	10	10	10
分取量 (mL)	1	1	1	1	1
最終液量 (μL)	20	20	20	20	20
注入液濃度 (pg/μL)	0.30	0.020	0.049	0.099	0.27
装置注入量 (μL)	2	2	2	2	2
操作ブランク平均 ^① (pg/g)	0.132	0	0	0	0
無添加平均 ^② (pg/g)	2.96	0.196	0.491	0.986	2.74
結果1 (pg/g)	2.88	0.189	0.456	0.974	2.78
結果2 (pg/g)	3.00	0.220	0.424	0.915	2.63
結果3 (pg/g)	2.92	0.173	0.494	0.969	2.68
結果4 (pg/g)	2.88	0.216	0.506	0.968	2.73
結果5 (pg/g)	2.95	0.194	0.434	1.066	2.79
結果6 (pg/g)	3.01	0.169	0.595	1.183	2.58
結果7 (pg/g)	3.02	0.198	0.554	0.937	2.89
結果8 (pg/g)	2.95	0.164	0.477	0.970	2.80
結果9 (pg/g)	2.99	0.239	0.480	0.897	2.77
平均値 (pg/g)	2.96	0.196	0.491	0.986	2.74
標準偏差	0.0530	0.0255	0.0551	0.0878	0.0958
MDL (pg/g)	0.20	0.095	0.20	0.33	0.36
MQL (pg/g)	0.53	0.25	0.55	0.88	0.96
S/N	131	6.6	14	31	40
CV (%)	1.8	13	11.2	8.9	3.5

※MDL= $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

※MQL= $\sigma_{n-1} \times 10$

① 操作ブランク平均：

試料マトリックスのみがない状態で他は同様の操作を行い、測定した値の平均値

② 無添加平均：

MDL 算出用試料に標準品を添加していない状態で含まれる濃度の平均値

§2 解説

【分析法】

〔フローチャート〕

分析のフローチャートを図3に示す。

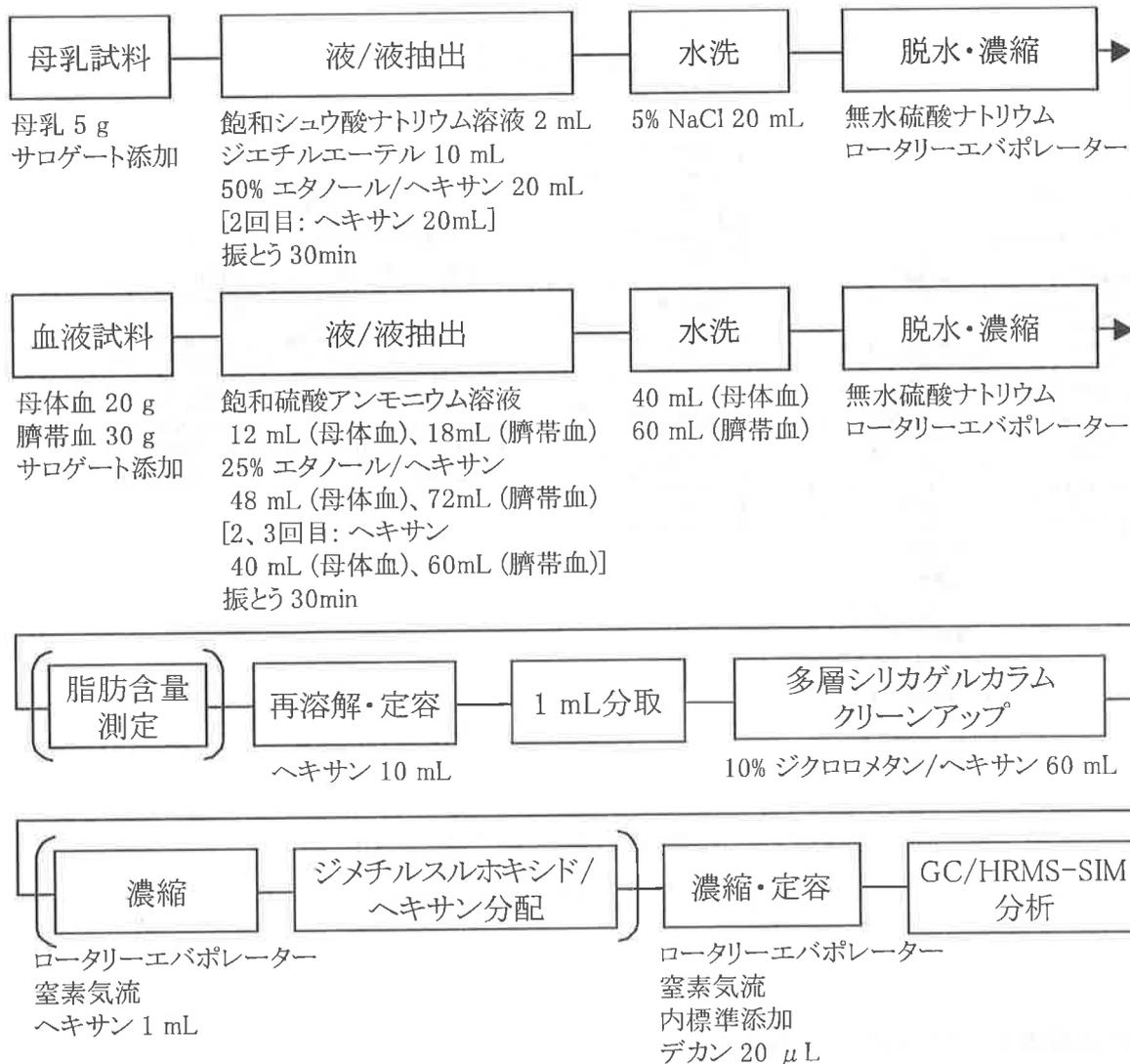


図3 ペンタブロモジフェニルエーテルの分析フロー

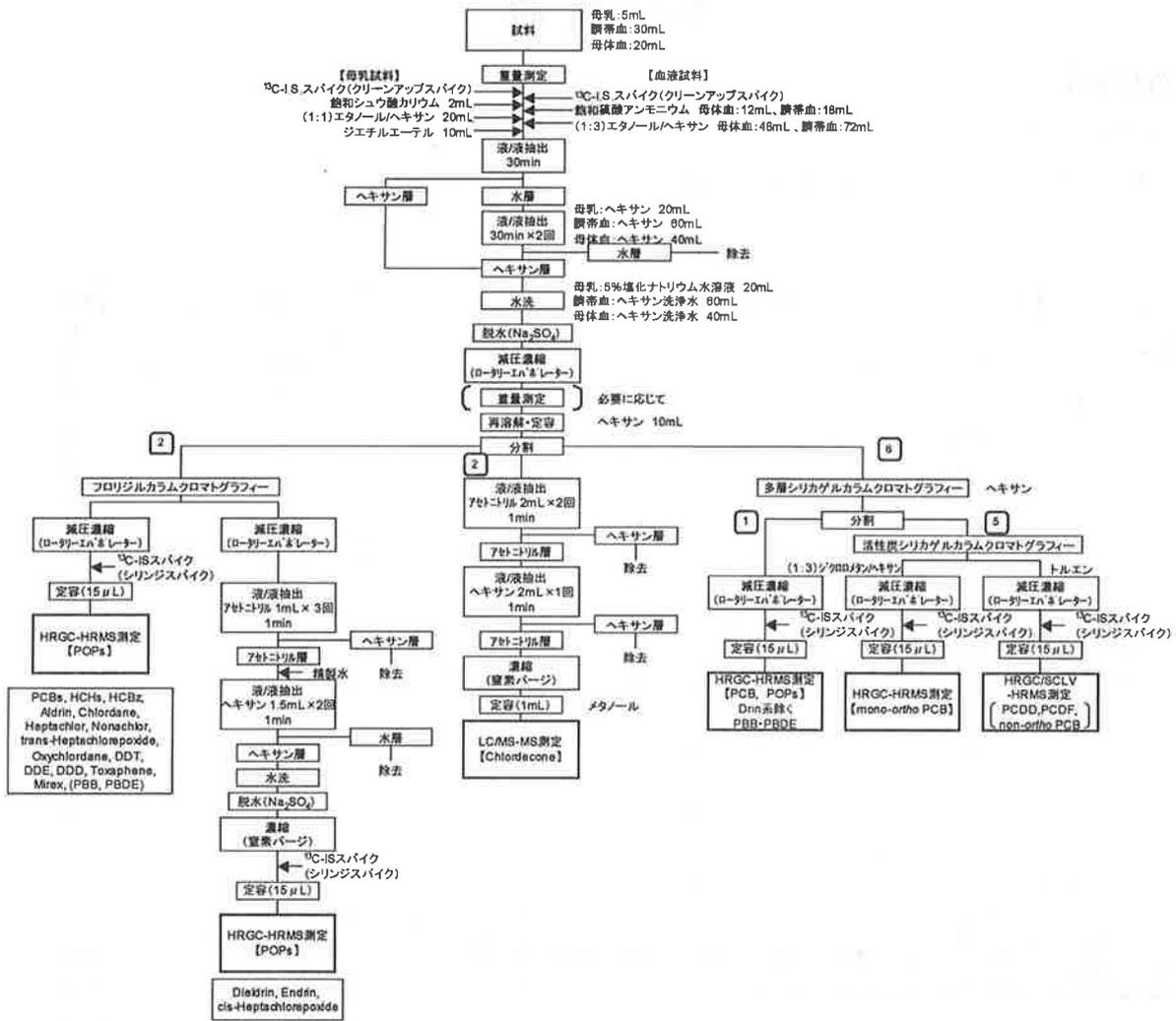


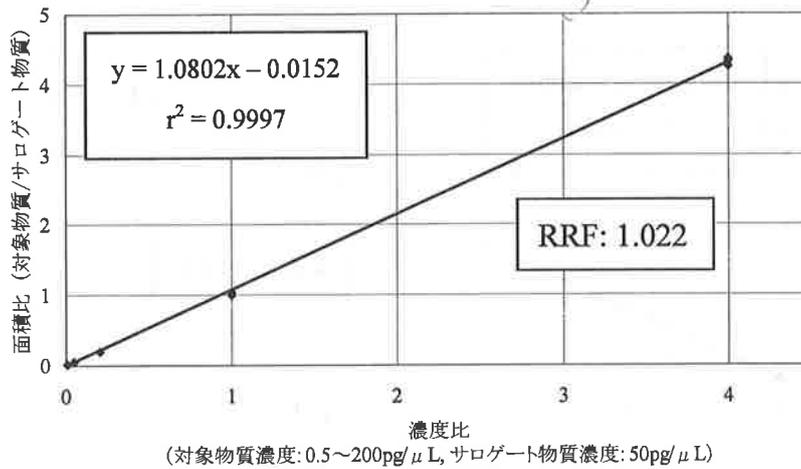
図4 ダイオキシン類等を含めた場合の分析フロー (四角内数字は試料溶液の分割比)

【検量線及びマススペクトル】

検量線及びマススペクトル図等を次に示す。

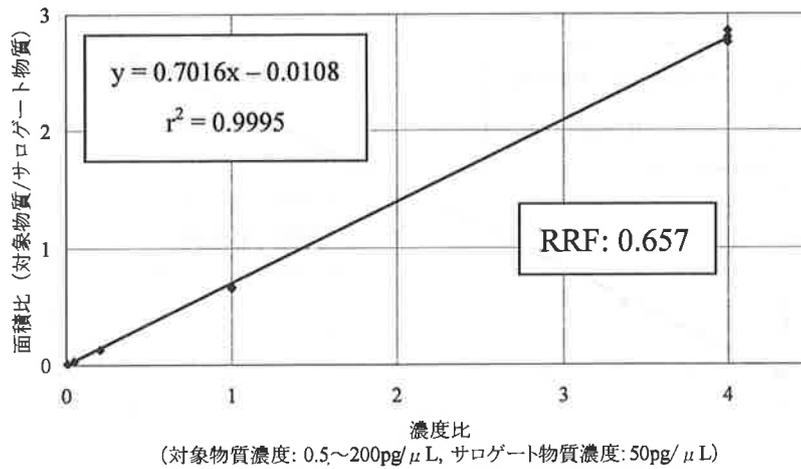
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#47)

サロゲート物質：2,2',4,4'-Tetrabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#47)



2,2',4,5'-Tetrabromodiphenylether (#49)

サロゲート物質：2,2',4,4'-Tetrabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#47)



2,3',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#66)

サロゲート物質：2,2',4,4'-Tetrabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#47)

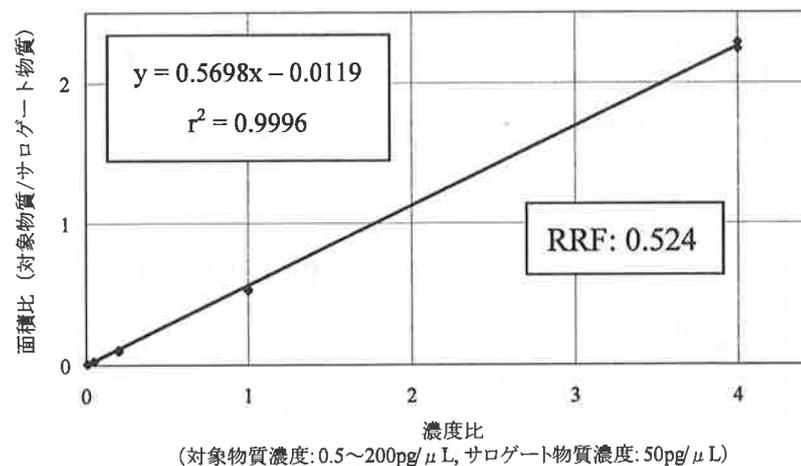
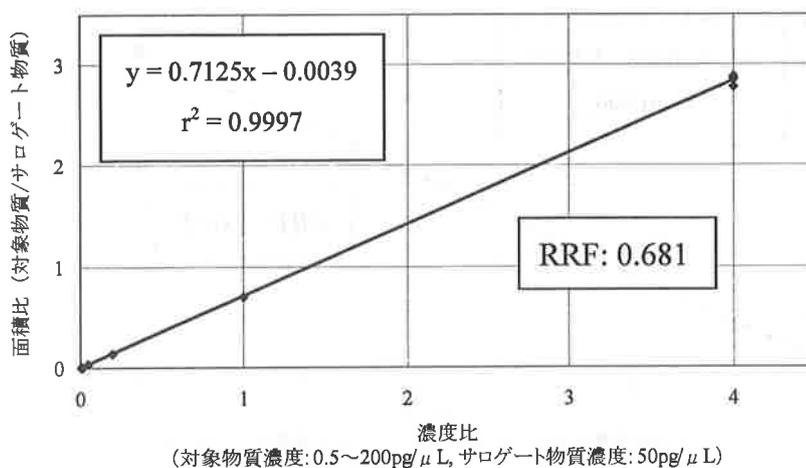


図 5-1 ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs) 検量線

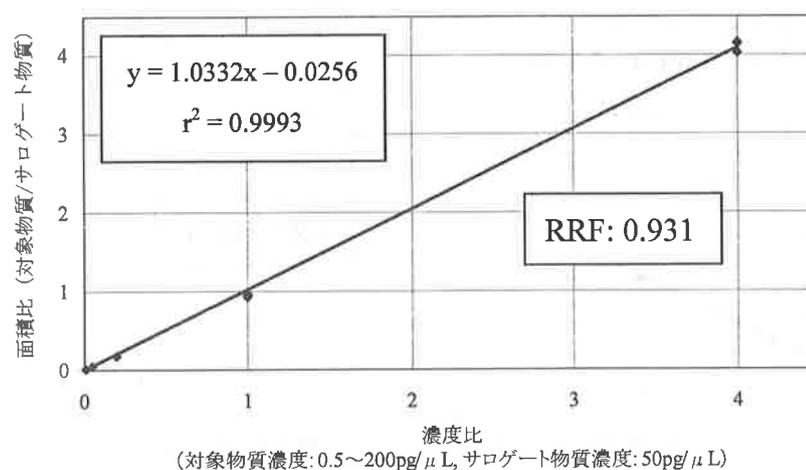
2,3',4',6-Tetrabromodiphenylether (#71)

サロゲート物質：2,2',4,4'-Tetrabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#47)



3,3',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#77)

サロゲート物質：2,2',4,4'-Tetrabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#47)



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

サロゲート物質：2,2',4,4',5-Pentabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#99)

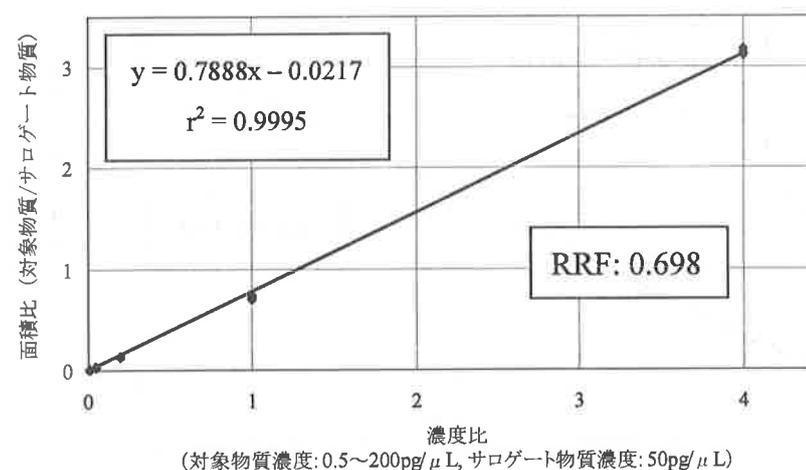
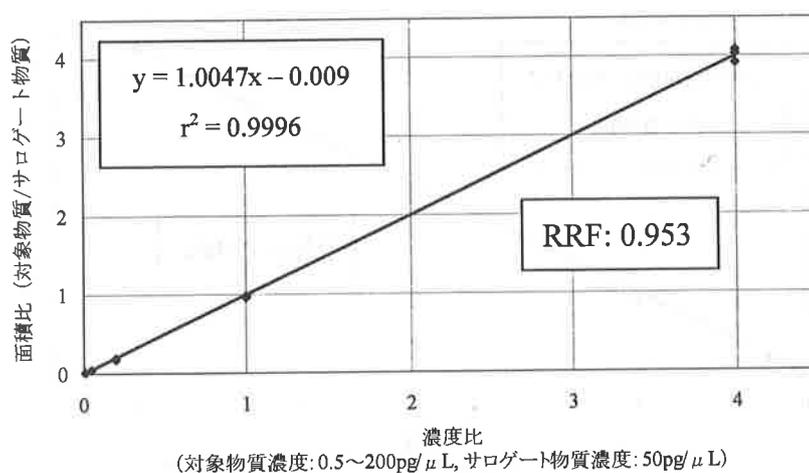


図 5-2 ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs) 検量線

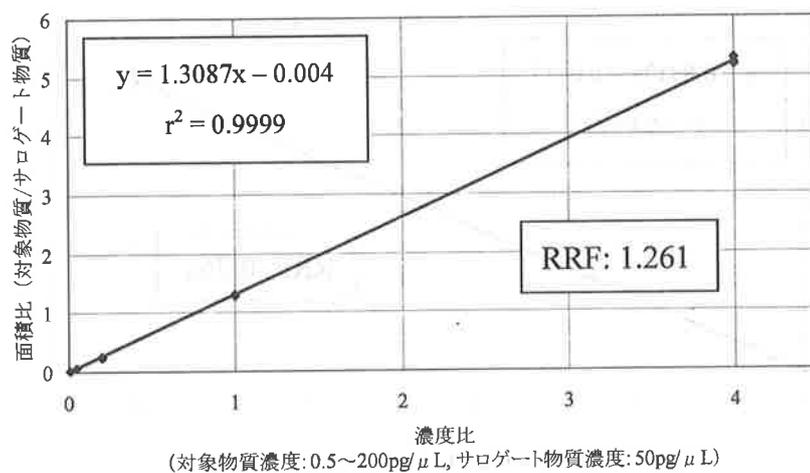
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenylether (#99)

サロゲート物質：2,2',4,4',5-Pentabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#99)



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

サロゲート物質：2,2',4,4',5-Pentabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#99)



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

サロゲート物質：2,2',4,4',5-Pentabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#99)

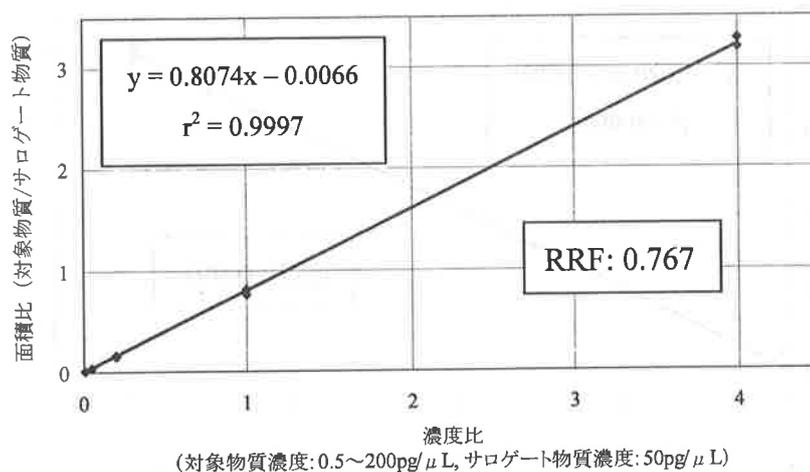
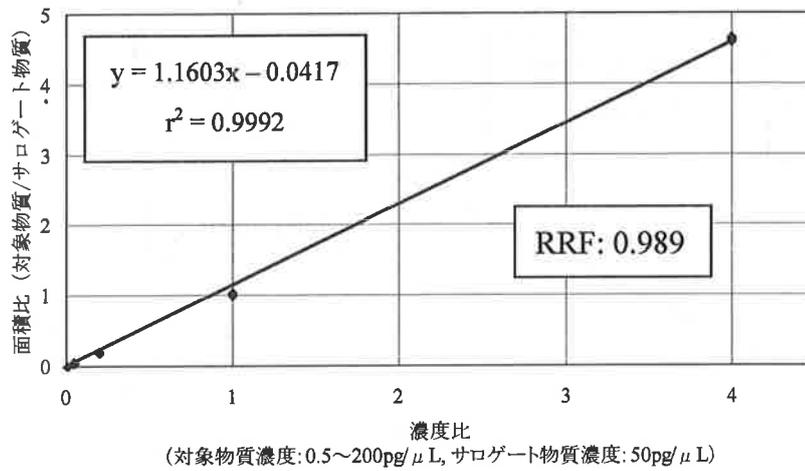


図 5-3 ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs) 検量線

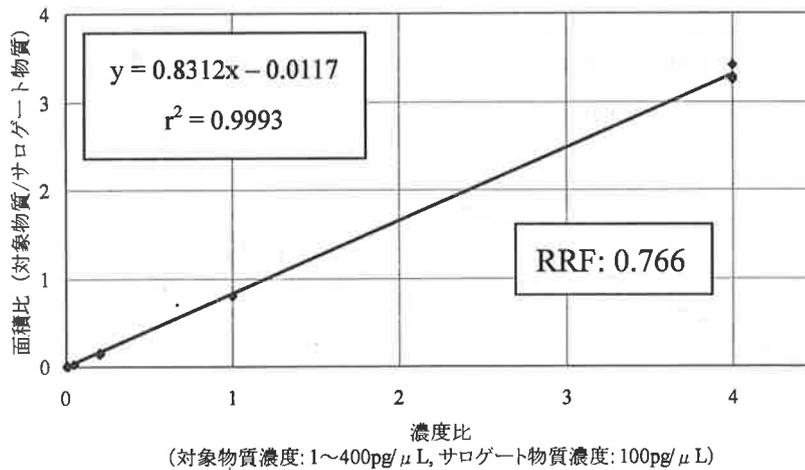
3,3',4,4',5-Pentabromodiphenylether (#126)

サロゲート物質 : 2,2',4,4',5-Pentabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#99)



2,2',3,4,4',5'-Hexabromodiphenylether (#138)

サロゲート物質 : 2,2',4,4',5,5'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#153)



2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenylether (#153)

サロゲート物質 : 2,2',4,4',5,5'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#153)

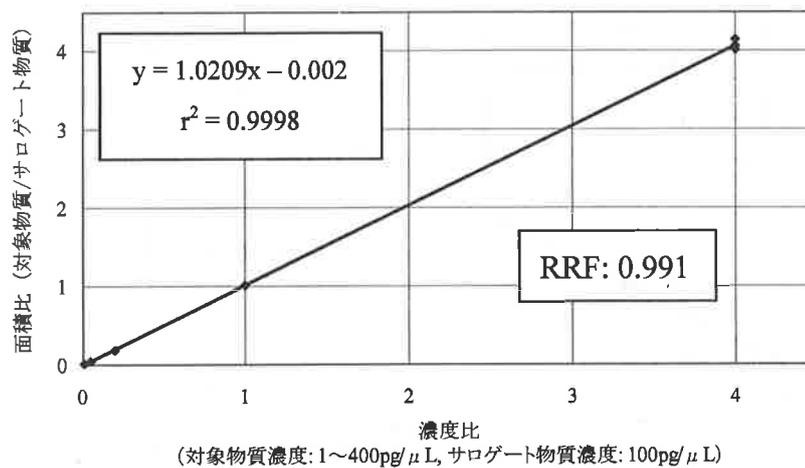
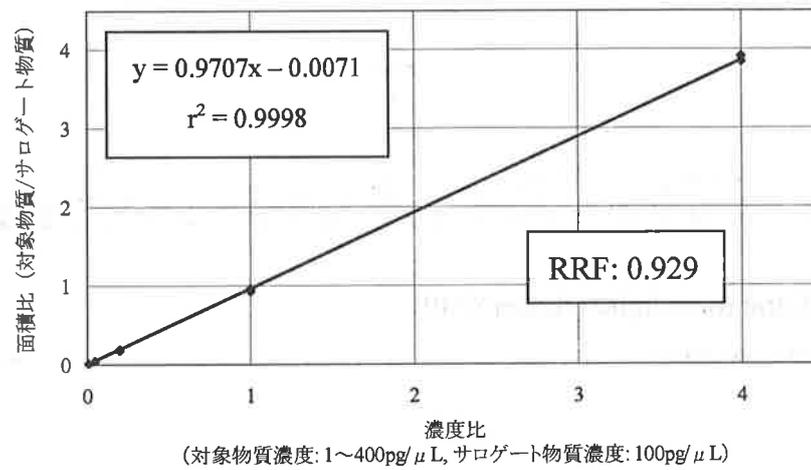


図 5-4 ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs) 検量線

2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenylether.(#154)

サロゲート物質 : 2,2',4,4',5,6'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#154)



2,3,3',4,4',5-Hexabromodiphenylether (#156)

サロゲート物質 : 2,2',4,4',5,5'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#153)

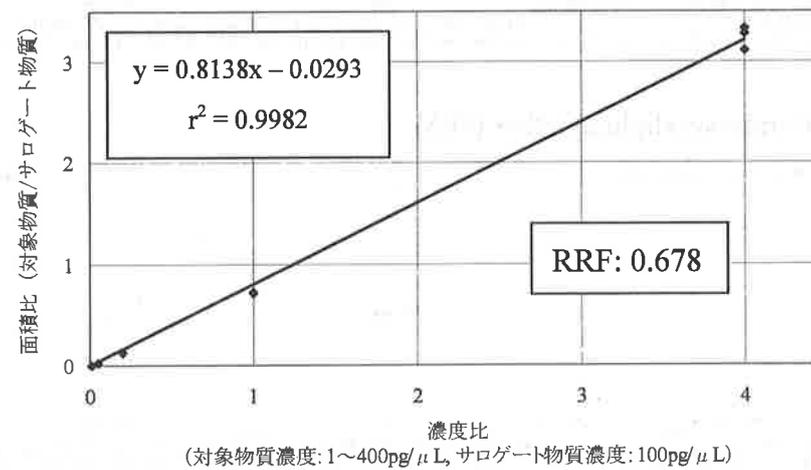
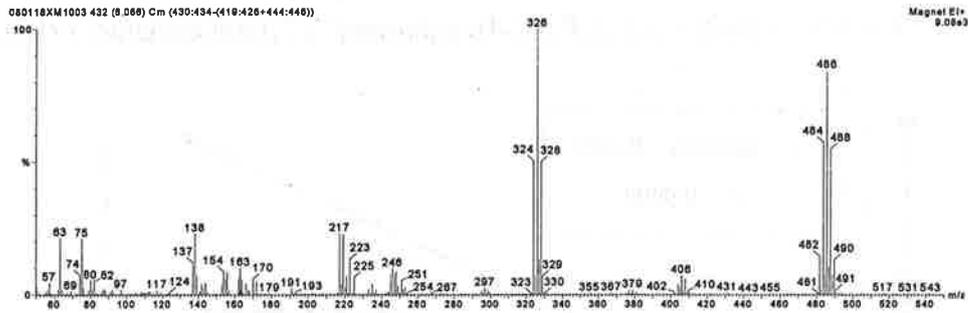
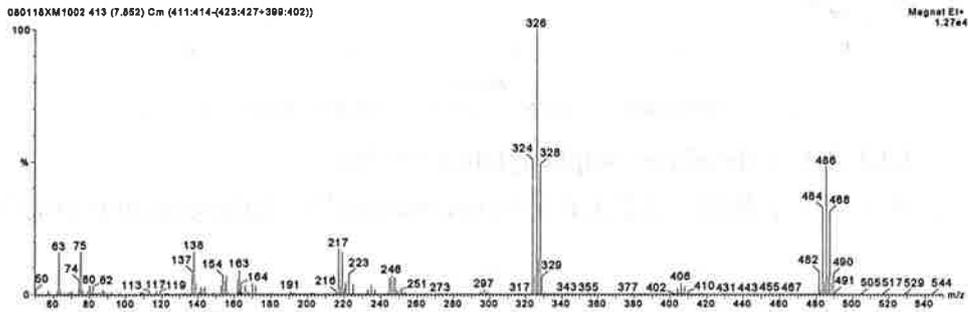


図 5-5 ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs) 検量線

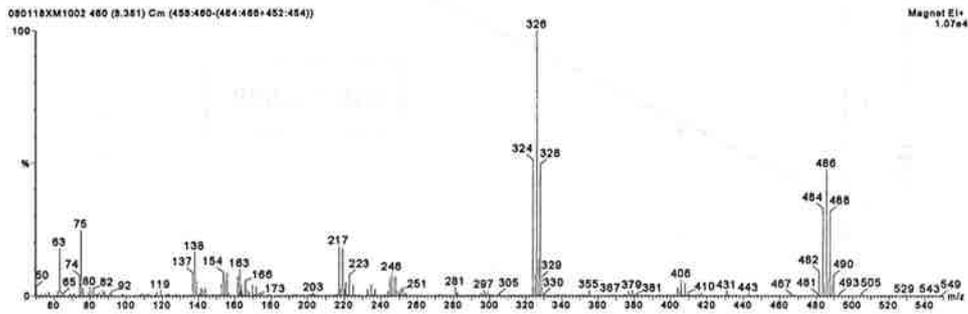
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#47)



2,2',4,5'-Tetrabromodiphenylether (#49)



2,3',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#66)



2,3',4',6-Tetrabromodiphenylether (#71)

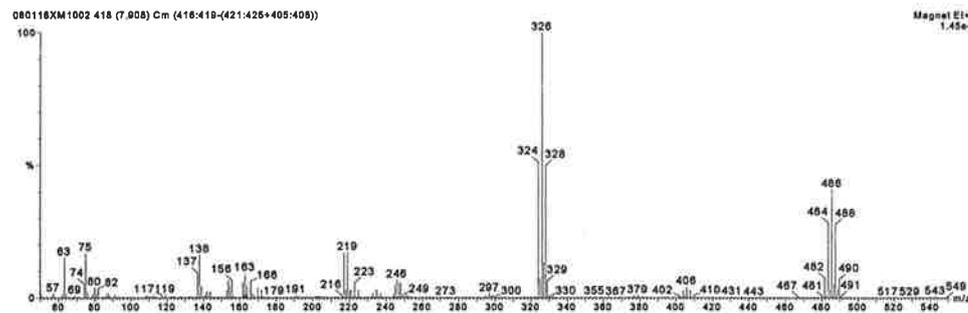
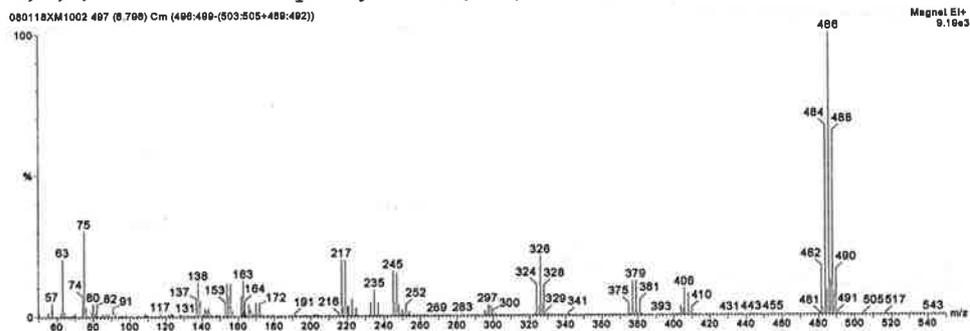
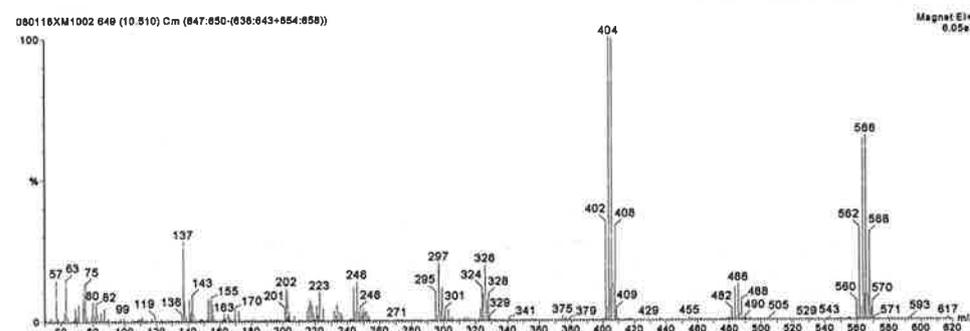


図 6-1 ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs) マススペクトル

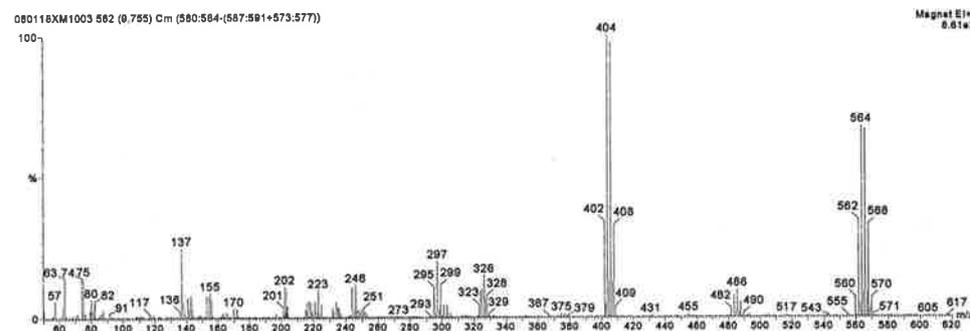
3,3',4,4'-Tetrabromodiphenylether (#77)



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



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



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

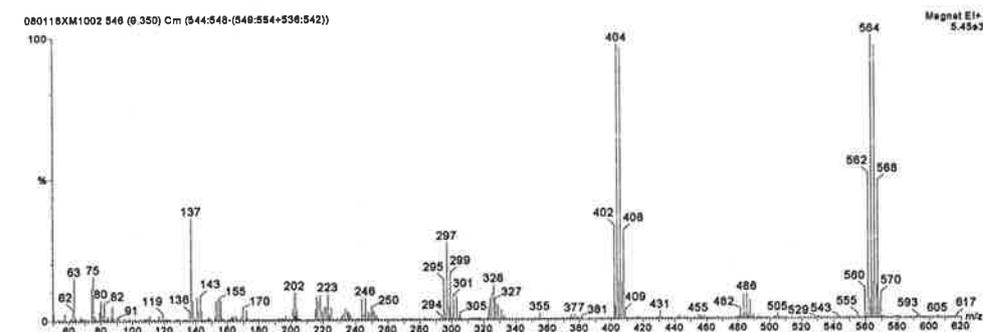
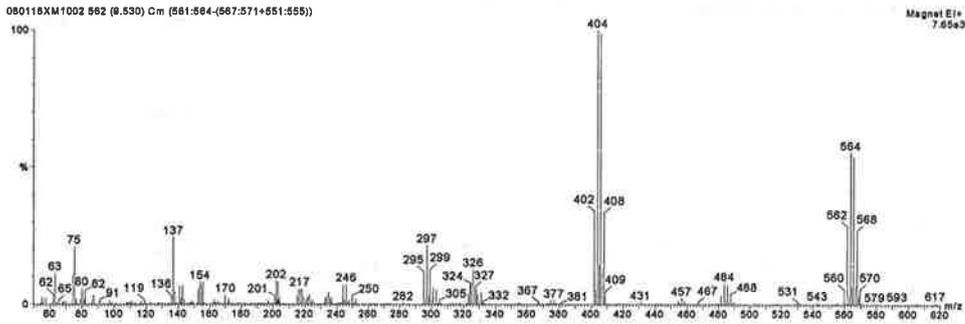
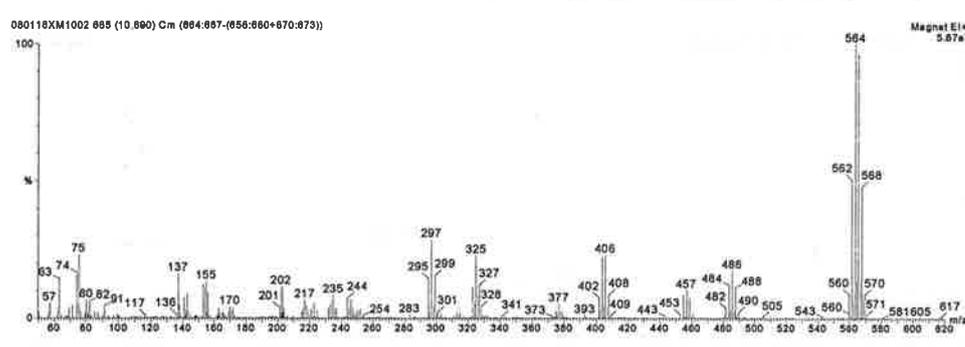


図 6-2 ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs) マススペクトル

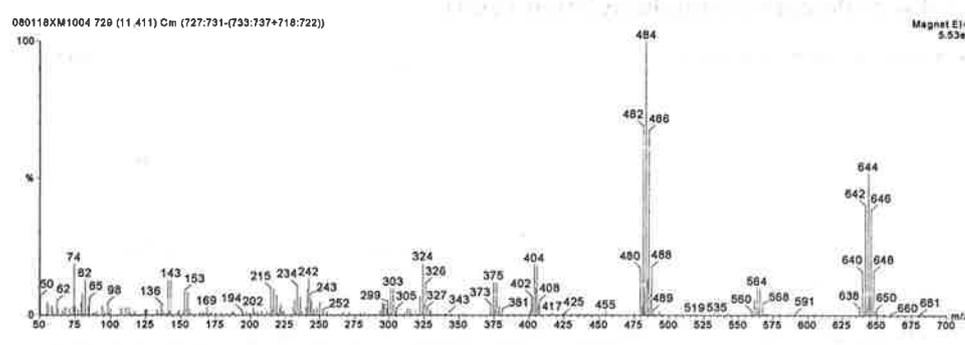
2,3',4,4',6-Pentabromodiphenylether (#119)



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



2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenylether (#153)



2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenylether (#154)

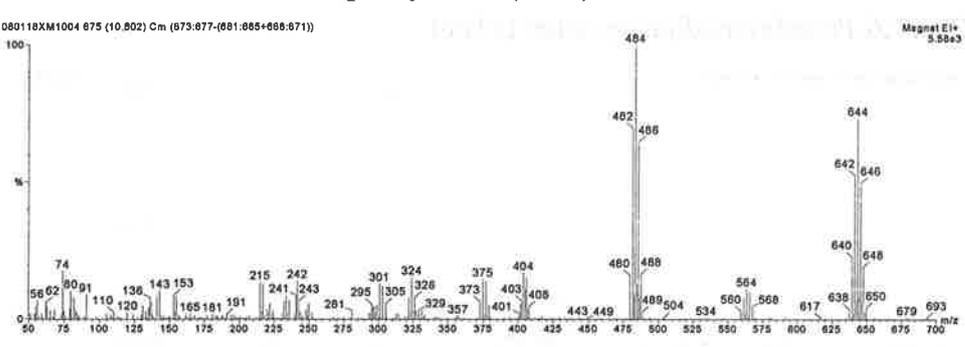
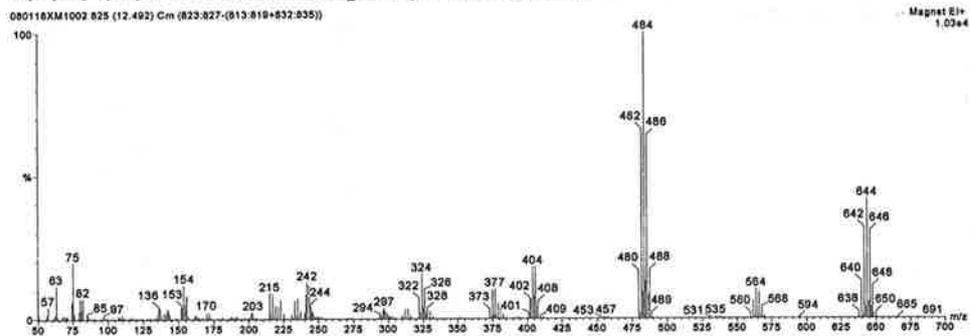
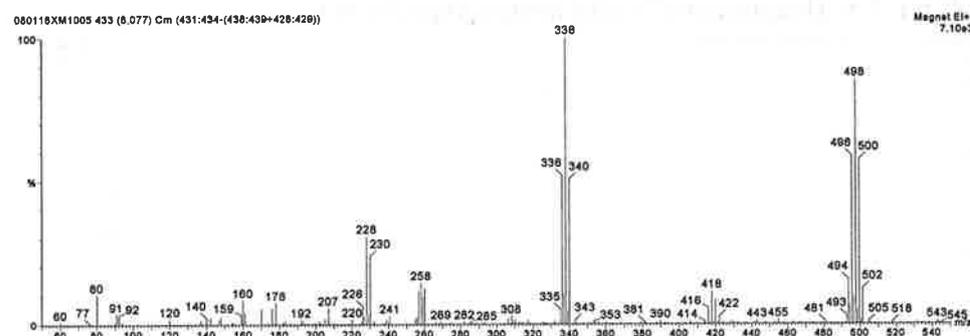


図 6-3 ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs) マススペクトル

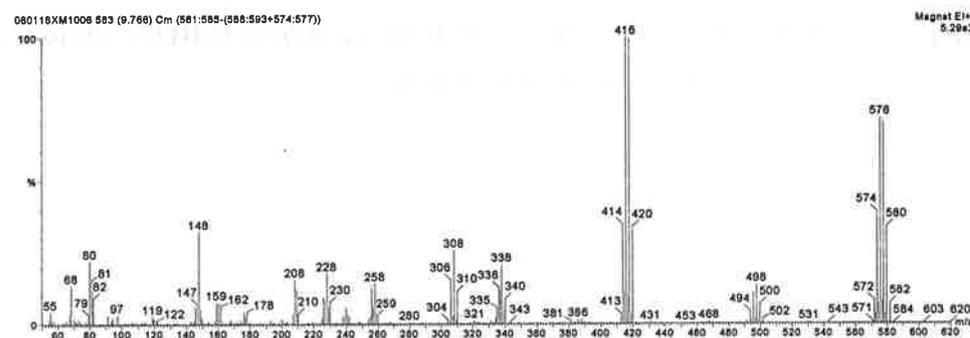
2,3,3',4,4',5-Hexabromodiphenylether (#156)



2,2',4,4'-Tetrabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#47)



2,2',4,4',5-Pentabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#99)



2,2',4,4',5,5'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#153)

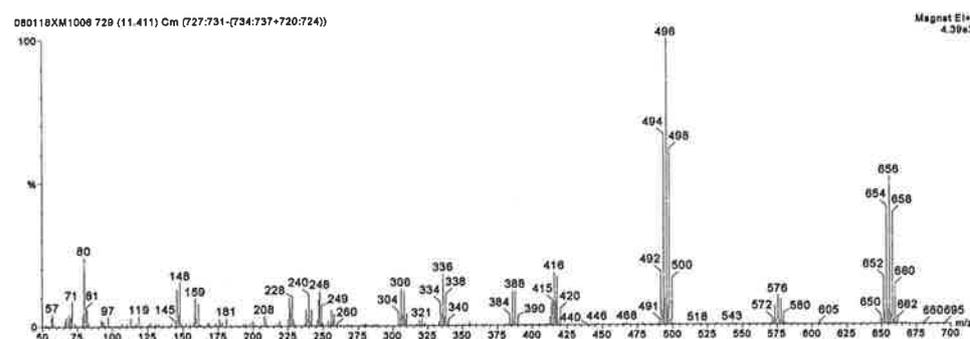
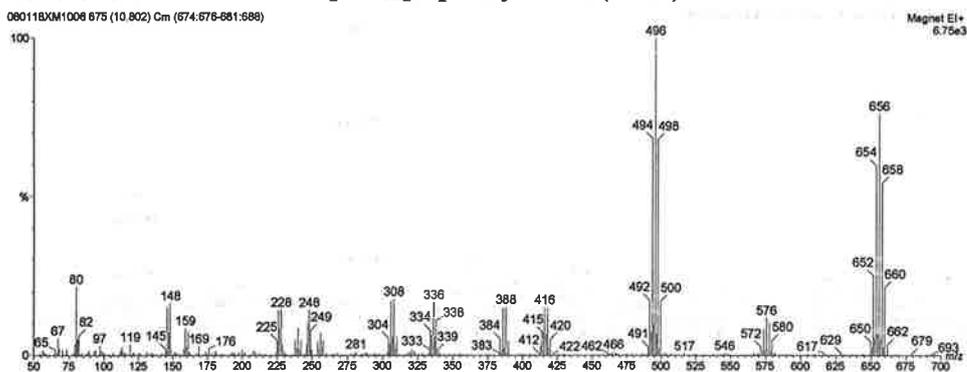


図 6-4 ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs) マススペクトル

2,2',4,4',5,6'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#154)

060118XM1006 675 (10.802) Cm (674:676-681:688)



2,2',3,4,4',5'-Hexabromo[¹³C₁₂]diphenylether (#138)

060118XM1005 794 (12.143) Cm (793:796-(800:804+783:787))

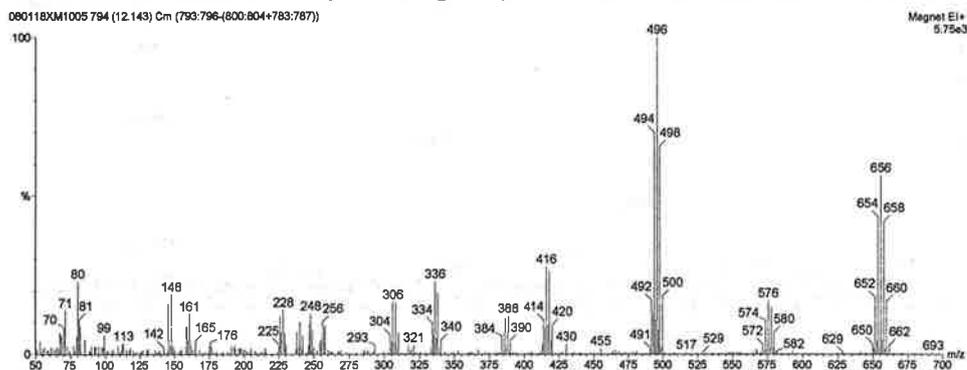


図 6-5 ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs) マススペクトル

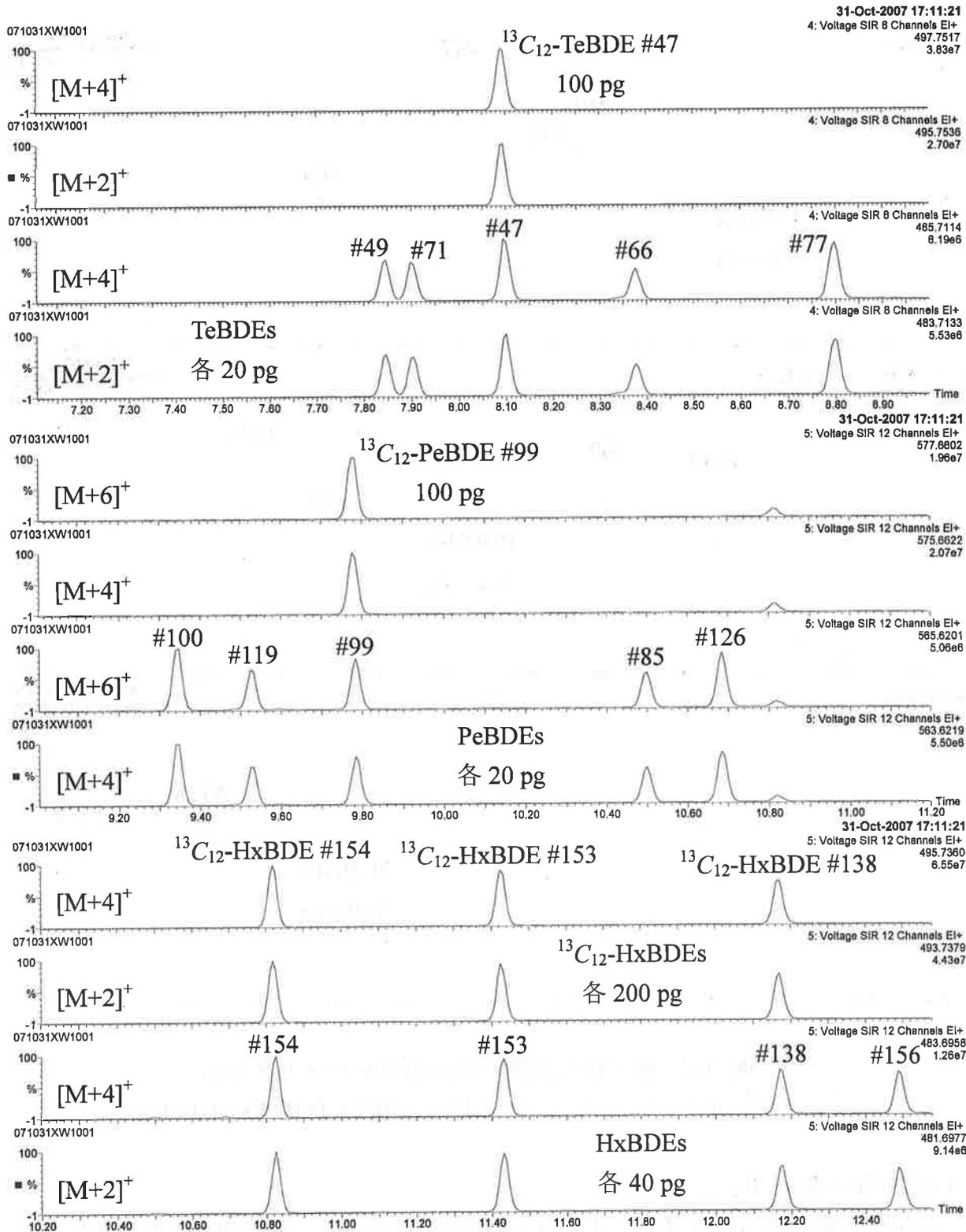


図 7-1 標準液の SIM クロマトグラム
ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs)

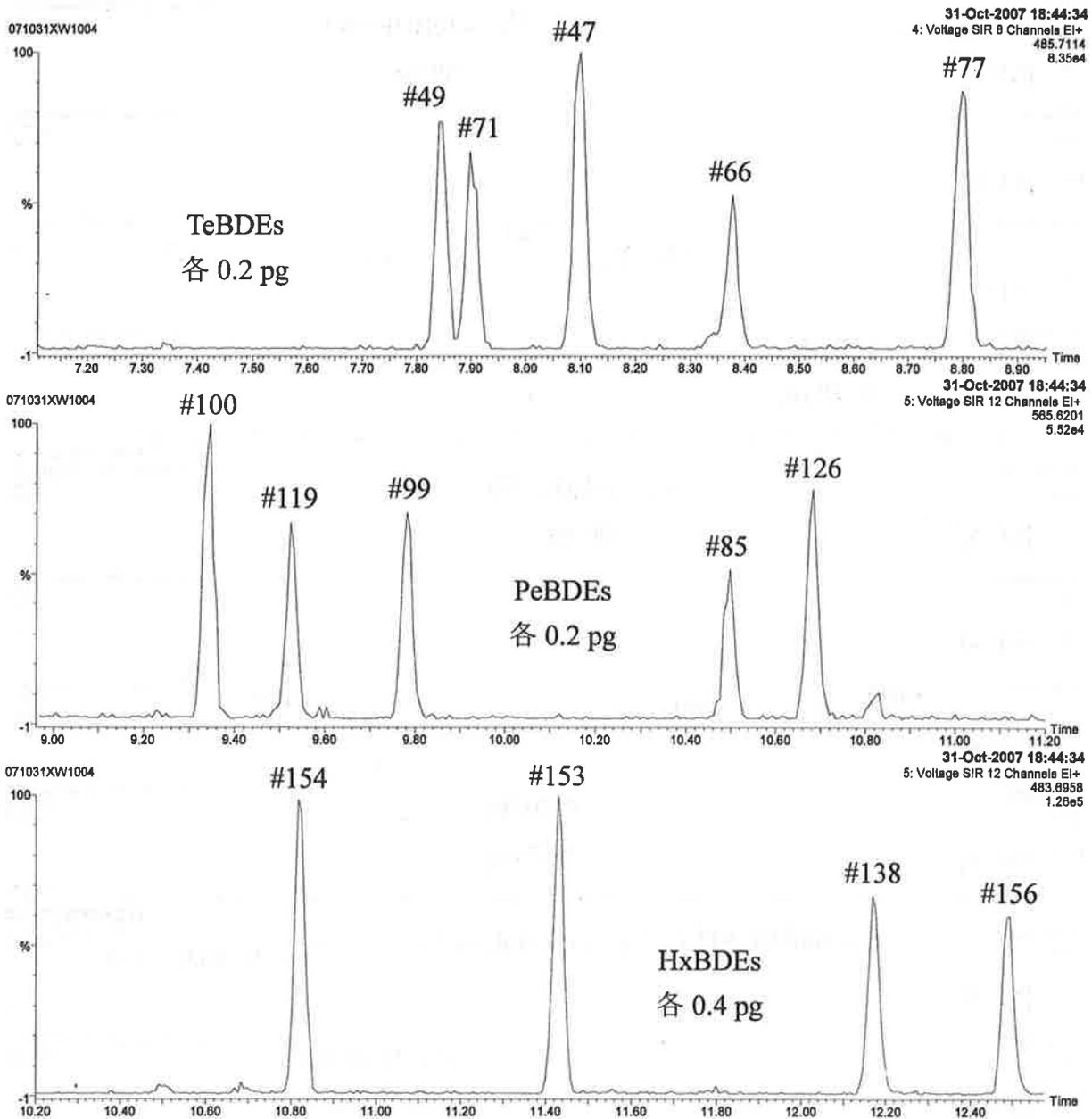


図 7-2 繰り返し試験の代表的なクロマトグラム
 ペンタブロモジフェニルエーテル類 (TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs)

[添加回収実験結果]

混合標準溶液 20 ng/mL を 10 μ L (200 pg) 添加した試料と、無添加の試料を用いて分析を行い、その定量値の差からサロゲート法による相対回収率を求める。

添加回収実験の結果を表 7 及び表 8 に示した。また、サロゲートを計算に用いずに求めた内標準法による絶対回収率及びその変動係数については括弧付で併記した。

表7 母乳の添加回収実験結果

対象物質名	試料量 (g)	添加量 (pg)	測定 回数	検出濃度 (pg/g)	回収率 (%)	変動係数 (%)
2,2',4,4'-Tetrabromo diphenylether (#47)	5 5	無添加 200	2 5	11.0 52.0	— 103 (109)	— 3.1 (4.0)
2,2',4,5'-Tetrabromo diphenylether (#49)	5 5	無添加 200	2 5	1.4 42.5	— 103 (110)	— 4.7 (7.6)
2,3',4,4'-Tetrabromo diphenylether (#66)	5 5	無添加 200	2 5	N.D. 41.0	— 102 (109)	— 2.6 (5.8)
2,3',4',6-Tetrabromo diphenylether (#71)	5 5	無添加 200	2 5	N.D. 40.9	— 102 (109)	— 3.4 (5.3)
3,3',4,4'-Tetrabromo diphenylether (#77)	5 5	無添加 200	2 5	N.D. 40.4	— 101 (108)	— 3.6 (4.4)
2,2',3,4,4'-Pentabromo diphenylether (#85)	5 5	無添加 200	2 5	N.D. 40.3	— 101 (93)	— 4.4 (6.1)
2,2',4,4',5-Pentabromo diphenylether (#99)	5 5	無添加 200	2 5	1.4 43.6	— 105 (97)	— 1.6 (4.7)
2,2',4,4',6-Pentabromo diphenylether (#100)	5 5	無添加 200	2 5	3.7 48.4	— 112 (103)	— 2.6 (5.2)
2,3',4,4',6-Pentabromo diphenylether (#119)	5 5	無添加 200	2 5	1.0 44.2	— 108 (100)	— 4.2 (7.8)
3,3',4,4',5-Pentabromo diphenylether (#126)	5 5	無添加 200	2 5	N.D. 39.8	— 100 (92)	— 4.3 (6.3)
2,2',3,4,4',5'-Hexabromo diphenylether (#138)	5 5	無添加 400	2 5	N.D. 77.5	— 97 (89)	— 3.3 (7.9)
2,2',4,4',5,5'-Hexabromo diphenylether (#153)	5 5	無添加 400	2 5	7.4 88.5	— 101 (93)	— 3.1 (6.4)
2,2',4,4',5,6'-Hexabromo diphenylether (#154)	5 5	無添加 400	2 5	1.3 82.0	— 101 (96)	— 2.2 (4.2)
2,3,3',4,4',5-Hexabromo diphenylether (#156)	5 5	無添加 400	2 5	N.D. 78.8	— 99 (90)	— 5.2 (8.9)
2,2',4,4'-Tetrabromo	5	1000	2	—	114	—
[¹³ C ₁₂]diphenylether (#47)* ¹	5	1000	5	—	107	4.1
2,2',4,4',5-Pentabromo	5	1000	2	—	101	—
[¹³ C ₁₂]diphenylether (#99)* ¹	5	1000	5	—	92	4.7
2,2',4,4',5,5'-Hexabromo	5	2000	2	—	97	—
[¹³ C ₁₂]diphenylether (#153)* ¹	5	2000	5	—	92	5.4
2,2',4,4',5,6'-Hexabromo	5	2000	2	—	104	—
[¹³ C ₁₂]diphenylether (#154)* ¹	5	2000	5	—	95	4.8

*1 サロゲート物質の絶対回収率

表8 血液（全血）の添加回収実験結果

対象物質名	試料量 (g)	添加量 (pg)	測定 回数	検出濃度 (pg/g)	回収率 (%)	変動係数 (%)
2,2',4,4'-Tetrabromo diphenylether (#47)	20 20	無添加 200	2 5	3.0 13.1	— 102 (112)	— 1.7 (11)
2,2',4,5'-Tetrabromo diphenylether (#49)	20 20	無添加 200	2 5	0.22 10.3	— 101 (111)	— 3.3 (7.5)
2,3',4,4'-Tetrabromo diphenylether (#66)	20 20	無添加 200	2 5	N.D. 9.9	— 99 (109)	— 1.8 (7.9)
2,3',4',6-Tetrabromo diphenylether (#71)	20 20	無添加 200	2 5	N.D. 9.4	— 94 (103)	— 2.8 (8.0)
3,3',4,4'-Tetrabromo diphenylether (#77)	20 20	無添加 200	2 5	N.D. 9.7	— 97 (106)	— 2.0 (8.9)
2,2',3,4,4'-Pentabromo diphenylether (#85)	20 20	無添加 200	2 5	N.D. 9.6	— 96 (107)	— 3.9 (4.9)
2,2',4,4',5-Pentabromo diphenylether (#99)	20 20	無添加 200	2 5	0.41 10.7	— 102 (115)	— 3.6 (7.9)
2,2',4,4',6-Pentabromo diphenylether (#100)	20 20	無添加 200	2 5	1.0 10.7	— 97 (109)	— 2.4 (7.8)
2,3',4,4',6-Pentabromo diphenylether (#119)	20 20	無添加 200	2 5	N.D. 10.1	— 101 (113)	— 1.4 (7.7)
3,3',4,4',5-Pentabromo diphenylether (#126)	20 20	無添加 200	2 5	N.D. 9.6	— 96 (107)	— 3.8 (5.8)
2,2',3,4,4',5'-Hexabromo diphenylether (#138)	20 20	無添加 400	2 5	N.D. 19.3	— 97 (91)	— 5.9 (5.0)
2,2',4,4',5,5'-Hexabromo diphenylether (#153)	20 20	無添加 400	2 5	2.7 22.4	— 99 (93)	— 1.5 (4.6)
2,2',4,4',5,6'-Hexabromo diphenylether (#154)	20 20	無添加 400	2 5	N.D. 20.2	— 101 (94)	— 1.7 (7.0)
2,3,3',4,4',5-Hexabromo diphenylether (#156)	20 20	無添加 400	2 5	N.D. 19.4	— 97 (91)	— 7.5 (5.4)
2,2',4,4'-Tetrabromo [¹³ C ₁₂]diphenylether (#47)* ¹	20 20	1000 1000	2 5	— —	104 110	— 9.4
2,2',4,4',5-Pentabromo [¹³ C ₁₂]diphenylether (#99)* ¹	20 20	1000 1000	2 5	— —	108 112	— 8.3
2,2',4,4',5,5'-Hexabromo [¹³ C ₁₂]diphenylether (#153)* ¹	20 20	2000 2000	2 5	— —	100 94	— 3.5
2,2',4,4',5,6'-Hexabromo [¹³ C ₁₂]diphenylether (#154)* ¹	20 20	2000 2000	2 5	— —	96 93	— 7.2

*1 サロゲート物質の絶対回収率

[多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー]

多層シリカゲルカラム(注1)からの溶出パターンを表9及び表10に示した。ヘキサンで溶出した場合には、溶出液量 100 mL においても回収されない異性体(#85, #138等)が存在した。一方、10%ジクロロメタン/ヘキサンで溶出した場合には、溶出液量 40 mL で添加したほぼ全ての異性体が回収された。この結果から、多層シリカゲルカラムにおける展開溶媒には 10%ジクロロメタン/ヘキサンを用い、溶出液量は 60 mL とした。

表9 多層シリカゲルカラムからの溶出パターン(10%ジクロロメタン/ヘキサン)

	10%ジクロロメタン/ヘキサン					回収率 (%)
	0-20 mL	20-40 mL	40-60 mL	60-80 mL	80-100 mL	
2,2',4,4'-TeBDE (#47)	1	103	0	0	0	104
2,2',4,5'-TeBDE (#49)	0	100	0	0	0	101
2,3',4,4'-TeBDE (#66)	1	102	0	0	0	103
2,3',4',6-TeBDE (#71)	0	99	0	0	0	99
3,3',4,4'-TeBDE (#77)	1	101	0	0	0	101
2,2',3,4,4'-PeBDE (#85)	0	99	0	0	0	99
2,2',4,4',5-PeBDE (#99)	2	99	0	0	0	101
2,2',4,4',6-PeBDE (#100)	5	96	0	0	0	101
2,3',4,4',6-PeBDE (#119)	6	94	0	0	0	100
3,3',4,4',5-PeBDE (#126)	3	98	0	0	0	101
2,2',3,4,4',5'-HxBDE (#138)	0	97	0	0	0	97
2,2',4,4',5,5'-HxBDE (#153)	4	92	0	0	0	96
2,2',4,4',5,6'-HxBDE (#154)	7	89	0	0	0	96
¹³ C ₁₂ -2,2',4,4'-TeBDE (#47)	1	108	0	0	0	108
¹³ C ₁₂ -2,2',4,4',5-PeBDE (#99)	2	100	0	0	0	101
¹³ C ₁₂ -2,2',4,4',5,5'-HxBDE (#153)	4	93	0	0	0	97
¹³ C ₁₂ -2,2',4,4',5,6'-HxBDE (#154)	7	89	0	0	0	96

標準物質 1 ng、サロゲート物質 1 ng 添加

表 10 多層シリカゲルカラムからの溶出パターン(ヘキサン)

	ヘキサン					回収率 (%)
	0-20 mL	20-40 mL	40-60 mL	60-80 mL	80-100 mL	
2,2',4,4'-TeBDE (#47)	0	1	43	49	10	103
2,2',4,5'-TeBDE (#49)	0	1	50	43	7	101
2,3',4,4'-TeBDE (#66)	0	1	48	40	9	98
2,3',4',6'-TeBDE (#71)	0	0	14	52	25	90
3,3',4,4'-TeBDE (#77)	0	1	40	47	11	99
2,2',3,4,4'-PeBDE (#85)	0	0	2	18	39	58
2,2',4,4',5'-PeBDE (#99)	0	2	51	45	11	108
2,2',4,4',6'-PeBDE (#100)	0	8	77	24	3	112
2,3',4,4',6'-PeBDE (#119)	0	12	83	20	2	117
3,3',4,4',5'-PeBDE (#126)	0	2	51	43	13	110
2,2',3,4,4',5'-HxBDE (#138)	0	0	2	16	31	48
2,2',4,4',5,5'-HxBDE (#153)	0	2	39	36	11	89
2,2',4,4',5,6'-HxBDE (#154)	0	7	61	21	3	92
¹³ C ₁₂ -2,2',4,4'-TeBDE (#47)	0	1	41	48	9	98
¹³ C ₁₂ -2,2',4,4',5'-PeBDE (#99)	0	1	50	47	11	110
¹³ C ₁₂ -2,2',4,4',5,5'-HxBDE (#153)	0	2	41	37	11	91
¹³ C ₁₂ -2,2',4,4',5,6'-HxBDE (#154)	0	7	61	21	3	93

標準物質 1 ng、サロゲート物質 1 ng 添加

[環境試料分析例]

母乳から、ペンタブロモジフェニルエーテルが検出された(図 7)。

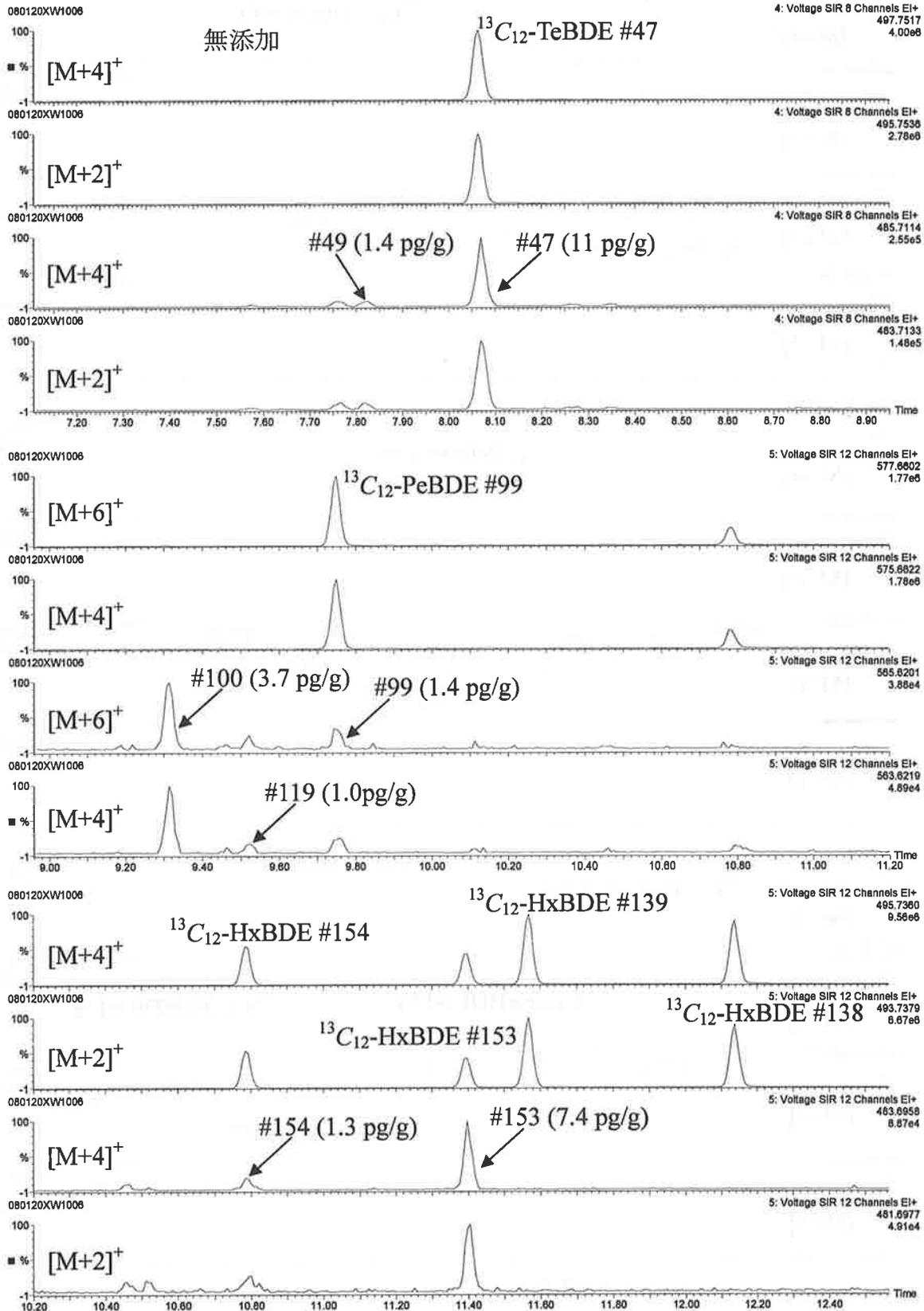


図 8-1 母乳試料のクロマトグラム(無添加)

ペンタブロモジフェニルエーテル類(TeBDEs、PeBDEs、HxBDEs)

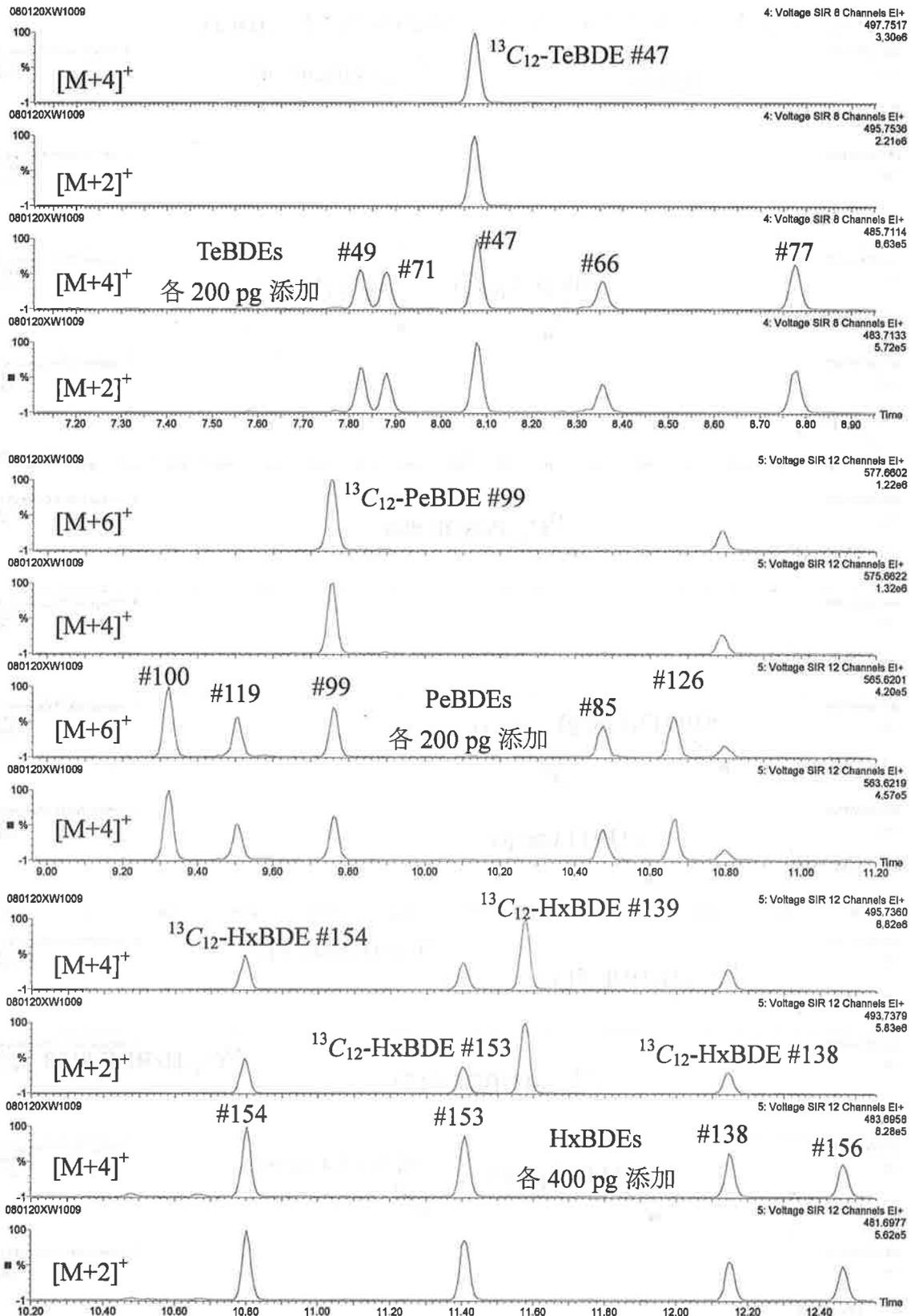


図 8-2 母乳試料のクロマトグラム(添加)

ペンタブロモジフェニルエーテル類(TeBDEs, PeBDEs, HxBDEs)

血液（全血）から、ペンタブロモジフェニルエーテルが検出された(図 8)。

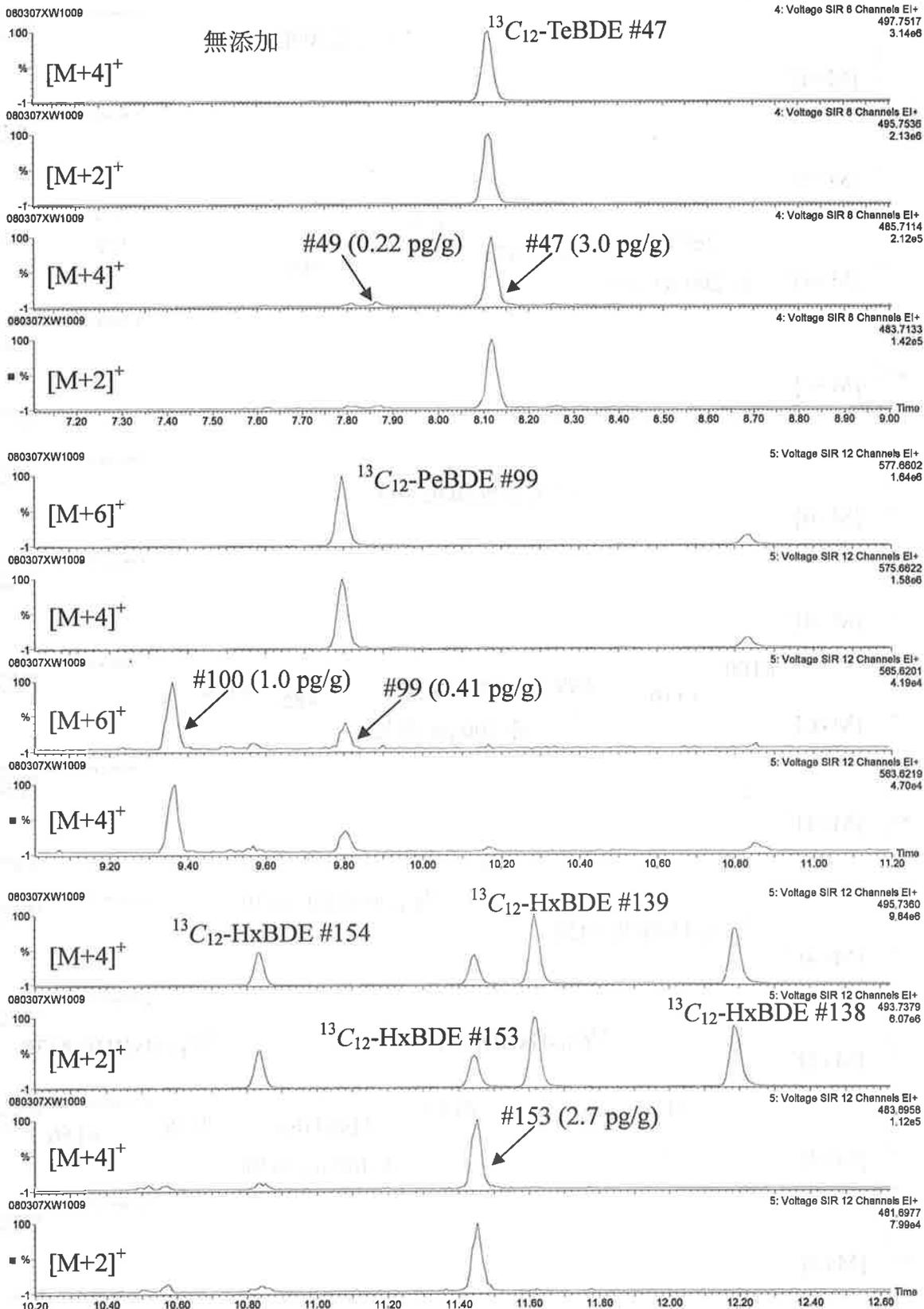


図 9-1 血液（全血）試料のクロマトグラム(無添加)
ペンタブロモジフェニルエーテル類(TeBDEs、PeBDEs、HxBDEs)

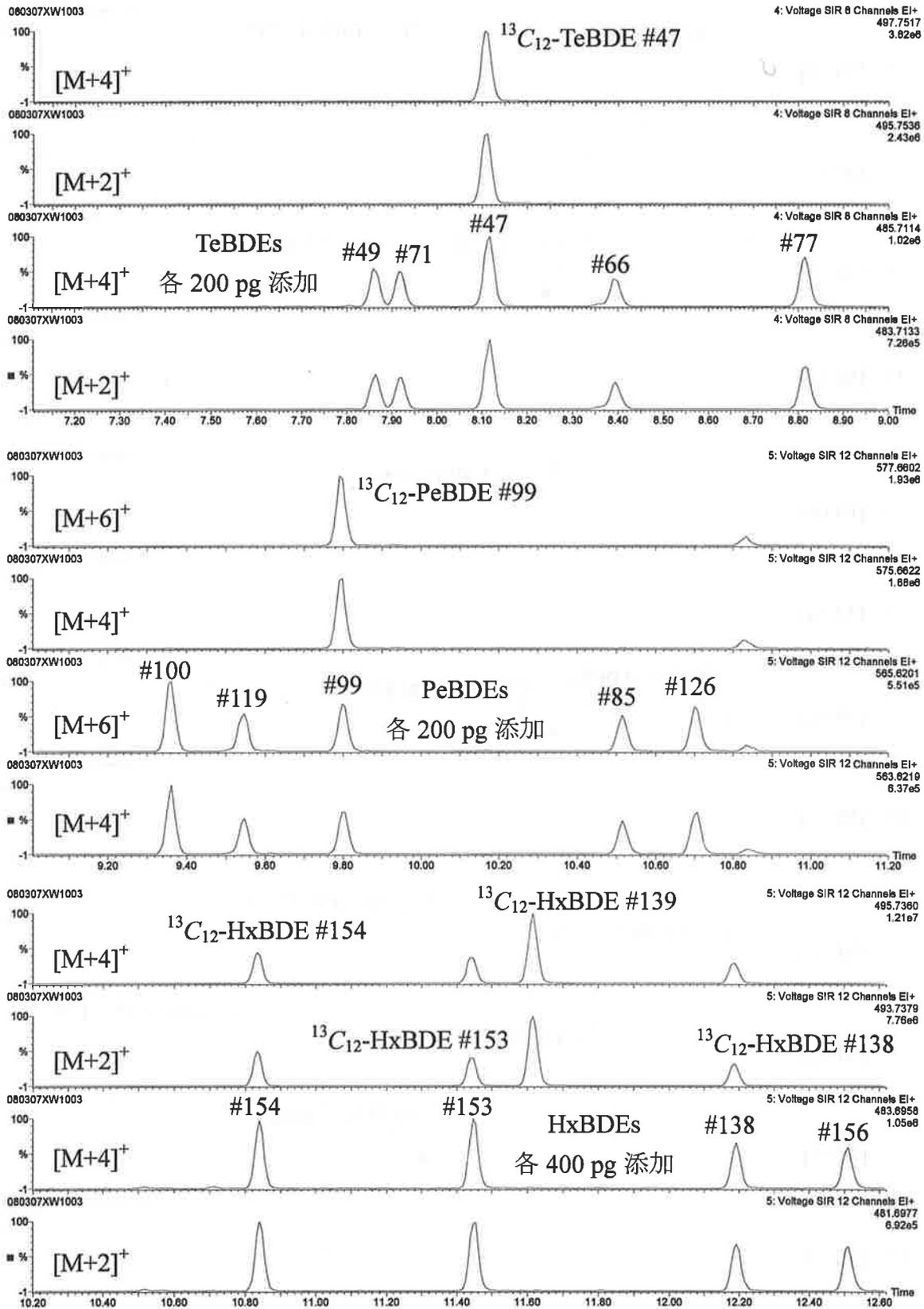


図 9-2 血液 (全血) 試料のクロマトグラム(添加)
 ペンタブロモジフェニルエーテル類(TeBDEs、PeBDEs、HxBDEs)

【評価】

本法により、母乳試料中ペンタブロモジフェニルエーテルの 0.44~4.4 pg/g-wet レベルの検出 (1.2~12 pg/g-wet レベルの定量) が可能である。また、血液 (全血) 試料中ペンタブロモジフェニルエーテルの 0.095~0.36 pg/g-wet レベルの検出 (0.25~0.96 pg/g-wet レベルの定量) が可能である。

【採取試料及び試料液の輸送】

試料採取後はガラス製の容器に入れ、遮光・冷凍で輸送・保管する。

【参考文献】

- 1) 環境省環境安全課：平成 15 年度 化学物質分析法開発調査報告書 (ペンタブロモジフェニルエーテル；岡山県環境保健センター), 153-178 (2004)
- 2) 環境省環境安全課：平成 16 年度 化学物質分析法開発調査報告書 (PBDEs ポリブロモジフェニルエーテル；岡山県環境保健センター), 68-107 (2005)
- 3) Watanabe K, Senthilkumar K, Masunaga S, Takasuga T, Iseki N and 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).
- 4) Takasuga, T., Senthilkumar, K., Takemori, H., Ohi, E., Tsuji, H. and Nagayama, J.: Impact of fermented brown rice with *Aspergillus oryzae* (FEBRA) intake and concentrations of polybrominated diphenylethers (PBDEs) in blood of humans from Japan. *Chemosphere*, 57, 795-811 (2004).
- 5) Inoue K, Harada K, Takenaka K, Uehara S, Kono M, Shimizu T, Takasuga T, Senthilkumar K, Yamashita F. and Koizumi A.: Levels and Concentration Ratios of Polychlorinated biphenyls and Polybrominated diphenyl ethers in Serum and Breast Milk in Japanese Mothers. *Environ Health Perspect*, 1141, 1179-1185 (2006).

【担当者氏名・連絡先】

担当 株式会社島津テクノリサーチ

住所 〒604-8436 京都市中京区西ノ京三条坊町 2 番地の 13

TEL : 075-811-3181 FAX : 075-821-7837

担当者 嶽盛公昭 h_takemori00@shimadzu-techno.co.jp

高菅卓三 t_takasuga00@shimadzu-techno.co.jp

Pentabromodiphenylether

This method provides procedure for the determination of pentabromodiphenylether in human breast milk and whole blood samples by gas-chromatography high resolution mass spectrometry (GC/HRMS).

[Human breast milk]

Human breast milk (5 g) spike with surrogate standards mixture and extracted by liquid-liquid extraction. Human milk is two times extracted with hexane, after adding 2 mL of saturated potassium oxalate aqueous solution, 10 mL of diethyl ether and 20 mL of 50% ethanol/hexane. The extract is washed with 5% sodium chloride and then dehydrated with anhydrous sodium sulfate. After solvent evaporation, lipid content of sample is determined by gravimetric method. The lipid is quantified sufficient to 10 mL of hexane. One milliliter of sample extract is subjected to multi layer silicagel column and then elute with 60 mL 10% dichloromethane/hexane. After the solution is evaporated and further concentrated to 20 microL by nitrogen gas purge, it is added internal standard. The analysis is measured with GC/HRMS-SIM. The method detection limits (MDL) and the method quantification limits (MQL) are 0.44-4.4 pg/g and 1.2-12 pg/g. The averages of recoveries (N=5) of pentabromodiphenylether in human milk containing 40-80 pg/g are 97-112%, and the relative standard deviations are 1.6-5.2%.

[Human whole blood]

Human whole blood (maternal blood 20 g or cord blood 30 g) spike with surrogate standards mixture and extracted by liquid-liquid extraction. Human blood is three times extracted with hexane, after adding saturated ammonium sulfate aqueous solution and 25% ethanol/hexane. The extract is washed with hexane-washed water and then dehydrated with anhydrous sodium sulfate. After solvent evaporation, lipid content of sample is determined by gravimetric method. The lipid is quantified sufficient to 10 mL of hexane. One milliliter of sample extract is subjected to multi layer silicagel column and then elute with 60 mL 10% dichloromethane/hexane. After the solution is evaporated and further concentrated to 20 µL by nitrogen gas purge, it is added internal standard. The analysis is measured with GC/HRMS-SIM. The method detection limits (MDL) and the method quantification limits (MQL) are 0.095-0.36 pg/g and 0.25-0.96 pg/g. The averages of recoveries (N=5) of pentabromodiphenylether in human blood containing 10-20 pg/g are 94-102%, and the relative standard deviations are 1.4-7.5%.

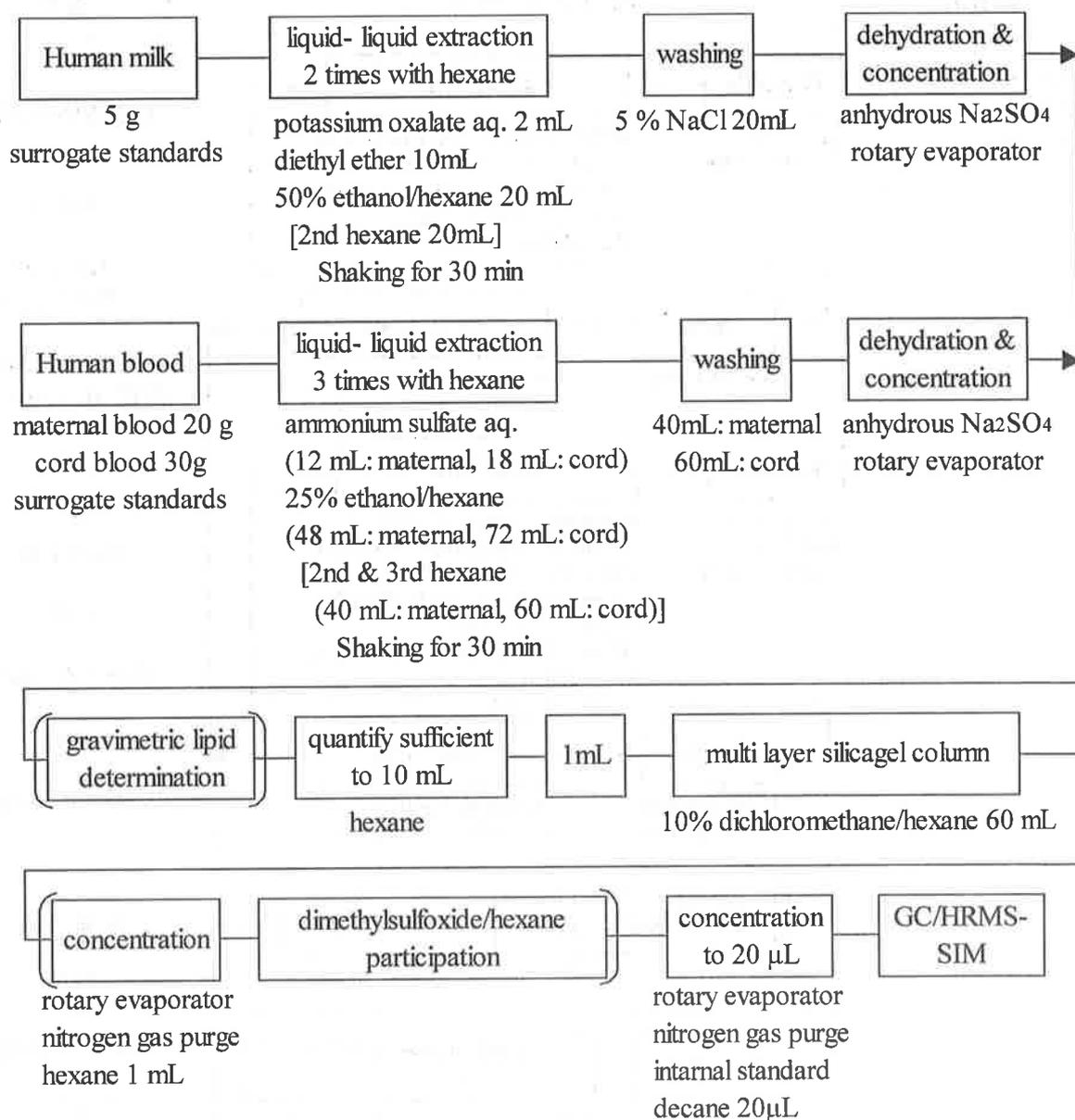


Figure 1. Flow chart illustrate sample extraction, cleanup and analytical method for pentabromodiphenylether in human milk and blood samples

物質名	分析法フローチャート	備考					
ペンタブロモ ジフェニル エーテル	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 母乳試料 </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 液/液抽出 母乳 5 g サロゲート添加 飽和シュウ酸ナトリウム溶液 2 mL ジエチルエーテル 10 mL 50% エタノール/ヘキサン 20 mL [2回目: ヘキサン 20mL] 振とう 30min </div>	GC/HRMS-SIM カラム ENV-5MS (関東化学) カラム長: 15 m 内径: 0.25 mm 膜厚: 0.1 μm					
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 水洗 5% NaCl 20 mL </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 脱水・濃縮 無水硫酸ナトリウム ロータリーエバポレーター </div>		検出下限 < 母乳 > 0.44~4.4 pg/g < 血液 > 0.095~0.36 pg/g				
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 血液試料 </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 液/液抽出 母体血 20 g 臍帯血 30 g サロゲート添加 飽和硫酸アンモニウム溶液 12 mL (母体血)、18mL (臍帯血) 25% エタノール/ヘキサン 48 mL (母体血)、72mL (臍帯血) [2、3回目: ヘキサン 40 mL (母体血)、60mL (臍帯血)] 振とう 30min </div>			定量下限 < 母乳 > 1.2~12 pg/g < 血液 > 0.25~0.96 pg/g			
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 水洗 40 mL (母体血) 60 mL (臍帯血) </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 脱水・濃縮 無水硫酸ナトリウム ロータリーエバポレーター </div>				< 母乳 > 0.44~4.4 pg/g < 血液 > 0.095~0.36 pg/g		
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 脂肪含量測定 </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 再溶解・定容 ヘキサン 10 mL </div>					< 母乳 > 1.2~12 pg/g < 血液 > 0.25~0.96 pg/g	
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 1 mL分取 </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 多層シリカゲルカラム クリーンアップ 10% ジクロロメタン/ヘキサン 60 mL </div>						< 母乳 > 0.44~4.4 pg/g < 血液 > 0.095~0.36 pg/g
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 濃縮 ロータリーエバポレーター 窒素気流 ヘキサン 1 mL </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> ジメチルスルホキシド/ ヘキサン分配 </div>						
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 濃縮・定容 ロータリーエバポレーター 窒素気流 内標準添加 デカン 20 μL </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> GC/HRMS-SIM 分析 </div>	< 母乳 > 0.44~4.4 pg/g < 血液 > 0.095~0.36 pg/g						