

## ．ポリブロモジフェニルエーテルの分析法

### 1 対象物質

水、底質および水生生物試料中のポリブロモジフェニルエーテル (PBDEs) の分析に適用する。測定対象物質としては、現在標準品が市販されている TriBDE ~ DeBDE となる (表 1)。また、各同族体の測定対象異性体は、TriBDE (8 異性体)、TeBDE (6 異性体)、PeBDE (8 異性体)、HxBDE (7 異性体)、HpBDE (5 異性体)、OcBDE (3 異性体)、NoBDE (2 異性体) 及び DeBDE の計 40 異性体である。従って、本調査対象物質は、環境中において極めて微量かつ多数の異性体を有することから、同位体希釈法を基礎とした高分解能 GC/MS による分析法を採用している。

### 2 目標検出下限値

目標検出下限値 (注 1) を表 1 に示す。

表 1 目標検出下限値

対象物質	水質 (ng/L)	底質 (µg/kg, dry)	生物 (µg/kg)
TriBDE	0.1	0.01	0.01
TeBDE	0.1	0.01	0.01
PeBDE	0.1	0.01	0.01
HxBDE	0.1	0.01	0.01
HpBDE	0.2	0.02	0.02
OcBDE	0.4	0.04	0.04
NoBDE	3	0.3	0.3
DeBDE	5	0.5	0.5

### 3 分析法の概要

本分析法は同位体内標準質量分析を基本とすることより、均一になるように処理を行った各試料に対して、サロゲート標準混合溶液を添加した後、前処理操作を開始する (注 2)。

水質試料からの抽出は、ジクロロメタンで液液分配抽出するか、または固相カートリッジ等で抽出して脱水、濃縮し、前処理液を調整する。

底質試料はよく風乾させた後、さらに減圧乾燥させて完全に水分を除去した試料を用い

てトルエン還流抽出を行う。抽出終了後速やかに熱時ろ過を行い、濃縮して前処理液を調製する。

生物試料はホモジナイズ等の処理によりペースト状になった試料を用いてアルカリ分解処理を行う。次に、水、ヘキサンを用いて液液分配抽出法にて抽出し、脱水、濃縮することにより前処理液を調製する。

調製した各試料の前処理液は、多層シリカゲルカラムクロマトグラフィー及び活性炭カラムクロマトグラフィー等にて精製を行った後、高分解能 GC/MS を用いて EI-SIM 法で測定する。

## 4 試薬、器具及び装置

### (1) 試薬等

- ・トルエン、ヘキサン、*n*-ノナン、ジクロロメタン、アセトン及びエタノール等は、残留農薬分析用（1,000 倍濃縮検定品）以上の溶媒または同等品を使用する。
- ・無水硫酸ナトリウムは PCB 分析用、水酸化カリウムと硝酸銀は特級品を、硫酸は精密分析用を使用する。また、その他の試薬は全て特級品以上のものを使用する。
- ・分析用精製水は蒸留水をヘキサンで十分に洗浄したものを使用する。
- ・多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーに使用される各種シリカゲル充填剤は、ダイオキシン類精製時に繁用されているものと同等品を使用（以下 ~ に調製法を記載）する。また、市販されているダイオキシン類精製用の各シリカ充填剤を用いてもよい。

シリカゲル（注 3）を残留農薬試験用（1,000 倍濃縮検定品）メタノール（注 4）で洗浄後、減圧乾燥したものを使用する。

10%硝酸銀シリカゲルはシリカゲルに対し、硝酸銀が 10（w/w）%の割合になるようにシリカゲルに 40（w/w）%硝酸銀水溶液を加え、よく攪拌し減圧下乾燥したものを使用する。

22%および 44%硫酸シリカゲルはシリカゲルに対し、硫酸が 22（w/w）% および 44（w/w）% の割合になるようにシリカゲルに加えて、よく攪拌し減圧下乾燥したものを使用する。

2%水酸化カリウムシリカゲルはシリカゲルに対し、水酸化カリウムが 2（w/w）%の割合になるようにシリカゲルに 1 mol/L 水酸化カリウム水溶液を加えて、よく攪拌し

減圧下乾燥したものを使用する。

調製した各充填剤は、遮光して保存する。

- ・ サロゲート物質及び native 標準品：市販標準品（注5）（参照；表2及び表3）。

表2 測定対象となる PBDEs

PBDEs congener	IUPAC #
2,2',4-Tribromodiphenyl ether	17
2,3',4-Tribromodiphenyl ether	25
2,4,4'-Tribromodiphenyl ether	28
2,4,6-Tribromodiphenyl ether	30
2,4',6-Tribromodiphenyl ether	32
2,3',4-Tribromodiphenyl ether	33
3,3',4-Tribromodiphenyl ether	35
3,4,4'-Tribromodiphenyl ether	37
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	47
2,2',4,5'Tetrabromodiphenyl ether	49
2,3',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	66
2,3',4',6-Tetrabromodiphenyl ether	71
2,4,4',6-Tetrabromodiphenyl ether	75
3,3',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	77
2,2',3,4,4'-Pentabromodiphenyl ether	85
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	99
2,2',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether	100
2,3,3',4,4'-Pentabromodiphenyl ether	105
2,3,4,5,6-Pentabromodiphenyl ether	116
2,3',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	118
2,3',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether	119
3,3',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	126
2,2',3,4,4',5'-Hexabromodiphenyl ether	138
2,2',3,4,4',6'-Hexabromodiphenyl ether	140
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether	153
2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenyl ether	154
2,2',4,4',6,6'-Hexabromodiphenyl ether	155
2,3,3',4,4',5-Hexabromodiphenyl ether	156
2,3,4,4',5,6-Hexabromodiphenyl ether	166
2,2',3,4,4',5,6-Heptabromodiphenyl ether	181
2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether	183
2,2',3,4,4',6,6'-Heptabromodiphenyl ether	184
2,3,3',4,4',5,6-Heptabromodiphenyl ether	190
2,3,3',4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether	191
2,2',3,3',4,4',5,6'-Octabromodiphenyl ether	196
2,2',3,3',4,4',6,6'-Octabromodiphenyl ether	197
2,2',3,4,4',5,5',6-Octabromodiphenyl ether	203
2,2',3,3',4,4',5,5',6-Nonabromodiphenyl ether	206
2,2',3,3',4,4',5,6,6'-Nonabromodiphenyl ether	207
Decabromodiphenyl ether	209

表 3 サロゲート物質としての<sup>13</sup>Cラベル化PBDEs

2,4,4'-Tribromodiphenyl ether	28
2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether	47
2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether	99
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether	153
2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether	183
Decabromodiphenyl ether	209

- ・ガラス繊維ろ紙（底質試料用）は保留粒子径 0.4 μm のものを使用する（注 6）。使用前に精製水、アセトン及びトルエン等で十分に洗浄する。
- ・活性炭カラムクロマトグラフィーに用いる充填剤としては、市販のダイオキシン類分析用または同等品を使用する（注 7）。

## （ 2 ） 器具及び装置等

- ・多層シリカゲルカラム：ガラスカラム管（水質用；内径 15 mm × 長さ 25 cm, 底質・生物用；内径 25 mm × 長さ 25 cm）に各シリカゲル充填剤を湿式充填する。充填方法は水質、底質等のダイオキシン類分析マニュアルに準じた方法で充填する（注 7、注 8）。
- ・ロータリーエバポレーターあるいはクデルナダニッシュ（K.D.）濃縮装置
- ・ホモジナイザー：万能ホモジナイザー（注 9）または同等品
- ・ガスクロマトグラフ / 質量分析計（磁場型 GC/MS）：GC は、キャピラリーカラム対応のもの。MS は、高分解能 MS。

## 5 試料の前処理

### （ 1 ） 水質試料（注 10）

水質試料 1 L（注 11）を 2 L の分液ロートに採取し、採取試料水の保存容器（ガラス製）はアセトン 10 mL、次にジクロロメタン 10 mL で洗浄後、この洗浄液を分液ロート内の試料水に合わせる。そして、塩化ナトリウム 30 g（海水の場合は無添加）及びサロゲート物質（TriBDE ~ HxBDE；2 ng, HpBDE；4 ng, DeBDE；8 ng）を加えて十分混合し（注 12）ジクロロメタン 200 mL を加えて 10 分間振とう抽出し静置した後、ジクロロメタン層を採取する。さらに上記水層にジクロロメタン 100 mL を添加し、同様に振とう抽出しジクロロメタン層を回収する。回収されたジクロロメタン抽出液を 500 mL の分液ロートに取り、無水硫酸ナトリウム 20 g を加えて 15 分間振とうし、脱水処理を行う。最後に、無水硫酸

ナトリウムを充填したガラスロートでろ過を行い、ロータリーエバポレーターあるいはK.D.濃縮器で約 10 mL に濃縮し、前処理液とする。(注 13)。

#### (2) 底質試料(注 14)

底質試料は、日陰でよく風乾し(注 15) 次に恒量に達するまで減圧乾燥させる(注 16)。そして、この底質試料を 300 mL の丸底フラスコに 10 g (乾重量) に秤量し、次にトルエン 100 mL とサロゲート物質 (TriBDE ~ HxBDE ; 2 ng, HpBDE ; 4 ng, DeBDE ; 8 ng) さらに銅粉末 1g を加えて還流冷却管に装着し、マントルヒーター上で 5 時間還流抽出を行う。抽出終了後、速やかに抽出液をガラス繊維ろ紙上で熱時ろ過を行う(注 17)。さらに、予め加温(約 60 ) にしておいたトルエン 50 mL を用いて、抽出フラスコ容器内の残渣に添加して完全に洗い込むように再びろ過を行い、先のろ液と合わせる(注 18)。得られたトルエン抽出液は無水硫酸ナトリウムを充填したガラスロートでろ過を行い、脱水処理した後、ロータリーエバポレーターあるいは K.D.濃縮器で約 10 mL に濃縮し、前処理液とする(注 19)。また、その他の抽出法としてダイオキシン類を抽出する場合と同様に、16 時間以上のトルエンソックスレー抽出法を採用してもよい。

#### (3) 生物試料(注 20)

生物試料は、ホモジナイザー等で均一なペースト状にしたもの 20 g を 500 mL の分液ロートに秤量し、これに 1 mol/L KOH/ EtOH (10% H<sub>2</sub>O 含有) 溶液 150 mL とサロゲート物質 (TriBDE ~ HxBDE ; 2 ng, HpBDE ; 4 ng, DeBDE ; 8 ng) を加えて(注 21) 2 時間振とうしながらアルカリ分解を行う(注 22)。次に、このアルカリ分解液に、ヘキサン 75 mL およびヘキサン交換水 120 mL を加え、30 分間振とうする。静置後このヘキサン層を 300 mL の分液ロートに分取して、水層にヘキサン 75 mL を加え同様の操作を 2 回行う。そして、ヘキサン抽出液を合わせ、精製水 50 mL を加えて回転するように穏やかに振り動かし、静置後水層を取り除き、同様の操作を 2 回繰り返す(注 23)。そして、分取したヘキサン層をロータリーエバポレーターあるいは K.D.濃縮器で約 10 mL に濃縮し、前処理液とする。

## 6 試料液の調製

PBDEs の精製には、ダイオキシン類の精製時に繁用されている多層シリカゲルカラムクロマトグラフィーと活性炭シリカゲルカラムクロマトグラフィーを組み合わせた

精製法を採用する（注 7、注 8）。ただし、試料の差異により、共存する夾雑物の種類や量が著しく異なるため、試料毎にカラムサイズ、充填シリカゲル量及び溶出溶媒量等を適宜最適化して行う。

#### （ 1 ）水質試料

図 1 は、多層シリカゲルカラムクロマトの一例を示したものであるが、ガラスカラム（内径 15 mm×長さ 30 cm）に各種シリカゲル{ 下からシリカゲル（0.4 g）、2%水酸化カリウムシリカゲル（1.5 g）、シリカゲル（0.4 g）、44%硫酸シリカゲル（2.2 g）、22%硫酸シリカゲル（2.5 g）、シリカゲル（0.4 g）、10%硝酸銀シリカゲル（3.0 g）を順次積層}を湿式充填した後（注 24）、ヘキサン 50 mL で洗浄を行う。次に、注射筒等を用いて前処理液（注 25）をカラムに負荷して液面をカラムヘッドまで下げる。少量のヘキサンで注射筒を洗浄しながら、カラムに負荷した後、80 mL のヘキサン（充填シリカゲル量の約 8 倍量）で夾雑物を溶出させる。そして、10%ジクロロメタン/ヘキサン 100 mL（充填シリカゲル量の約 10 倍量）により、測定対象物質である PBDEs を溶出させる（注 26）。この PBDEs 精製画分をロータリーエバポレーターあるいは K.D.濃縮器により数 mL にまで濃縮した後、窒素気流下で、約 100  $\mu$ L まで濃縮する（注 27）。さらに、ガラスカラム（内径 15 mm×長さ 30 cm）に活性炭シリカゲル（1.0g）を乾式充填した後、注射筒等を用いて、濃縮液をカラムに負荷した後、25%ジクロロメタン/ヘキサン 150mL により、測定対象物質である PBDEs を溶出させる。最後に、この溶出液を上記と同様な操作で数 mL まで濃縮後、*n*-ノナン溶液を 20  $\mu$ L 添加し、ジクロロメタンでの洗い込みと窒素気流下での濃縮を繰り返しながらサンプルバイアルに洗い込み、最終試料液（20  $\mu$ L）とする（注 28）。

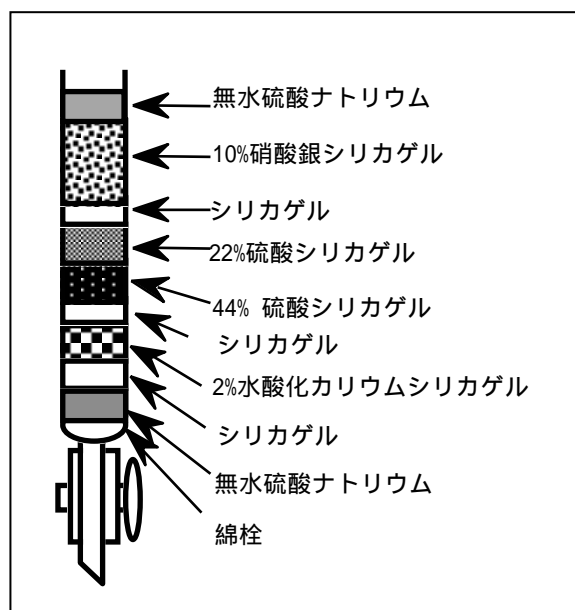


図1 多層シリカゲルカラムの一例

( 2 ) 底質試料 ( 注 29 )

底質試料の場合においては、試料中に夾雑物が大量に存在することより、水質試料の場合と比較して多層シリカゲルカラムによる精製を若干スケールアップして行う。具体的には、ガラスカラム(内径 25 mm × 長さ 25 cm)に各種シリカゲル{下からシリカゲル(0.9 g)、2%水酸化カリウムシリカゲル(3.0 g)、シリカゲル(0.9 g)、44%硫酸シリカゲル(4.5 g)、22%硫酸シリカゲル(6.0 g)、シリカゲル(0.9 g)、10%硝酸銀シリカゲル(10.0 g)を順次積層}を湿式充填した後(注 24)、ヘキサン 100 mL で洗浄を行う。次に、注射筒等を用いて前処理液(注 25)をカラムに負荷して液面をカラムヘッドまで下げる。少量のヘキサンで注射筒を洗浄しながら、カラムに負荷した後、200 mL のヘキサン(充填シリカゲル量の約 8 倍量)で夾雑物を溶出させる。そして、10%ジクロロメタン/ヘキサン 260 mL(充填シリカゲル量の約 10 倍量)により PBDEs を溶出させる(注 26)。そして、以下の操作は上記した水質試料の場合と同様な操作手順で行い、最終試料液(20 μL)を調製する。

( 3 ) 生物試料

生物試料においては、底質試料の場合と比較して硝酸銀シリカゲルの充填量を若干減量した多層シリカゲルカラムを調製する。すなわち、ガラスカラム(内径 25 mm × 長さ 25 cm)各種シリカゲル{下からシリカゲル(0.9 g)、2%水酸化カリウムシリカゲル(3.0 g)、シリ

カゲル(0.9 g)、44%硫酸シリカゲル(4.5 g)、22%硫酸シリカゲル(6.0 g)、シリカゲル(0.9 g)、10%硝酸銀シリカゲル(6.0 g)を順次積層}を湿式充填した後(注24)、ヘキサン 100 mLで洗浄を行う。次に、注射筒等を用いて前処理液(注25)をカラムに負荷して液面をカラムヘッドまで下げる。少量のヘキサンで注射筒を洗浄しながら、カラムに負荷した後、160 mLのヘキサン(充填シリカゲル量の約8倍量)で夾雑物を溶出させる。そして、10%ジクロロメタン/ヘキサン 220 mL(充填シリカゲル量の約10倍量)によりPBDEsを溶出させる(注26)。そして、以下の操作は上記した水質試料の場合と同様な操作手順で行い、最終試料液(20 µL)を調製する。

## 7 空試験液の調製

試料を用いずに「5 試料の前処理」及び「6 試料液の調製」の実験操作に準じて行なって得られた試料液を空試験液とする。空試験液から対象物質が検出された場合は、空試験値を差し引いて検出値とする(注30)。

## 8 標準液の調製

標準原液を *n*-ノナン等で適宜希釈混合して所定の濃度の混合標準液を調製する。全ての標準原液及び標準液は、暗所-20 以下で保存し、有効使用期間は分解が認められない場合は開封後1年間とする。

## 9 測定

本測定法においては、高分解能 GC/MS (EI-SIM 法)を用いて PBDEs の定量を行う。また、測定対象物質としては TriBDE (M.W.; 406.89) ~ DeBDE (M.W.; 959.17) までの、かなり物性の異なる同族体・異性体を含んでいることから、測定条件を 3~6 臭素化体(測定法 A)及び 7~10 臭素化体(測定法 B)に分けて定量操作を行う。具体的には、より高感度な PBDEs の検出を目的として、本測定ではタイムグループング法を採用しながら、測定法 A では対象物質の親イオン群を、測定法 B では娘イオン群をモニターする。

### (1) 高分解能 GC/MS の測定条件(注31)

- ・使用カラム：キャピラリーカラム(注32)

測定法 A：TriBDE ~ HxBDE；(例)長さ 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.15 µm



- 測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; (例) 長さ 15 m , 内径 0.25 mm , 膜厚 0.25  $\mu$ m
- ・液相
    - 測定法 A : TriBDE ~ HxBDE ; 50% フェニルメチルシリコン等 (注 33)
    - 測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; 5% フェニルメチルシリコン等 (注 34)
  - ・カラム温度
    - 測定法 A : TriBDE ~ HxBDE ; (例) 180 ( 2 min ) -3 /min-240 -20 /min-340 ( 10 min )
    - 測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; (例) 180 ( 2 min ) -20 /min-340 ( 10 min )
  - ・タイムグルーピング
    - 測定法 A : TriBDE ~ HxBDE ; 3,4 臭素化体 ( 0 ~ 24.5 min ) , 5,6 臭素化体 ( 24.5 ~ 37 min )
    - 測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; 7,8 臭素化体 ( 0 ~ 10 min ) , 9,10 臭素化体 ( 10 ~ 20 min )
  - ・注入法 : スプリットレス法 , パージ開始時間 1.5 min (注 32)
  - ・キャリアーガス : He カラム流量 : 1.2mL/min
  - ・注入口温度 : 280
  - ・イオン源温度 : 280
  - ・イオン化電圧 : 45 eV
  - ・注入量 : 1  $\mu$ L
  - ・試料導入法 : Capillary
  - ・イオン化法 : EI+
  - ・加速電圧 : 10 kV
  - ・磁場コイル : 測定法 A : TriBDE ~ HxBDE ; HS, 測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; HF
  - ・質量分解能 : 10,000
  - ・SIM 検出法 : Fix
  - ・質量幅 : 300 ppm
  - ・制御場 : Electric Field
  - ・スイッチング時間 : 測定法 A : TriBDE ~ HxBDE ; 90 m 秒  
測定法 B : HpBDE ~ DeBDE ; 150 m 秒
  - ・質量微調整法 : Lock & Check Method
  - ・マスロック用物質 : PFK EIpos

表 4 対象物質の測定イオン（注 35）

対象物質	定量イオン	確認イオン
TriBDE	405.8027 [M+2] <sup>+</sup>	407.8007 [M+4] <sup>+</sup> , 403.8047 [M] <sup>+</sup>
TeBDE	485.7112 [M+4] <sup>+</sup>	483.7132 [M+2] <sup>+</sup> , 487.7092 [M+6] <sup>+</sup>
PeBDE	563.6217 [M+4] <sup>+</sup>	565.6197 [M+6] <sup>+</sup> , 561.6237 [M+2] <sup>+</sup>
HxBDE	643.5302 [M+6] <sup>+</sup>	641.5322 [M+4] <sup>+</sup> , 645.5282 [M+8] <sup>+</sup>
HpBDE	561.6060 [M+4] <sup>+</sup> -2Br	563.6040 [M+6] <sup>+</sup> -2Br , 559.6080 [M+2] <sup>+</sup> -2Br
OcBDE	641.5145 [M+6] <sup>+</sup> -2Br	639.5165 [M+4] <sup>+</sup> -2Br , 643.5125 [M+8] <sup>+</sup> -2Br
NoBDE	719.4250 [M+6] <sup>+</sup> -2Br	721.4230 [M+8] <sup>+</sup> -2Br , 717.4270 [M+4] <sup>+</sup> -2Br
DeBDE	799.3335 [M+8] <sup>+</sup> -2Br	797.3355 [M+6] <sup>+</sup> -2Br , 801.3315 [M+10] <sup>+</sup> -2Br

表 5 サロゲート物質の測定イオン（注 35）

サロゲート物質	定量イオン	確認イオン
TriBDE (2,4,4'-Tribromodiphenyl ether)	417.8429 [M+2] <sup>+</sup>	419.8409 [M+4] <sup>+</sup>
TeBDE (2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether) (3,3',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether) (注 36)	497.7514 [M+4] <sup>+</sup>	495.7534 [M+2] <sup>+</sup>
PeBDE (2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether) (2,2',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether) (注 36) (2,3',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether) (注 36) (3,3',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether) (注 36)	575.6619 [M+4] <sup>+</sup>	577.6598 [M+6] <sup>+</sup>
HxBDE (2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether) (2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenyl ether) (注 36)	655.5704 [M+6] <sup>+</sup>	653.5724 [M+4] <sup>+</sup>
HpBDE (2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether)	573.6462 [M+4] <sup>+</sup> -2Br	575.6442 [M+6] <sup>+</sup> -2Br
DeBDE (Decabromodiphenyl ether)	811.3737 [M+8] <sup>+</sup> -2Br	809.3757 [M+6] <sup>+</sup> -2Br

表 6 タイムグループピッキング測定時におけるロックマス質量数

TriBDE ~ HxBDE の測定（測定法 A）		HpBDE ~ DeBDE の測定（測定法 B）	
ロックマス（3,4 臭素化体）	454.9729	ロックマス（7 臭素化体）	604.9633
ロックマス（5,6 臭素化体）	604.9633	ロックマス（10 臭素化体）	754.9537

## (2) 検量線

ダイオキシン類の測定法と同様に感度係数(RF)を用いて試料中のPBDEsを定量する。使用する高分解能GC-MSの検出下限付近と予想される濃度レベルを含む5段階以上の標準液1μLを3回以上測定し、次式からRFを求める。RFの相対標準偏差が10%以下の場合には平均RFを用いて試料を定量する。毎回の試料測定前に、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±20%以内であるならば、平均RFをそのまま用いて試料を定量する。一方、その濃度が±20%を外れた場合には、全ての標準液の再測定を行い、新たな平均RFを求めて試料の定量を行う。

$$RF=(As \times Cis)/(Ais \times Cs)$$

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(pg)

Cs：検量線標準液中の対象物質質量(pg)

## (3) 試料の測定

測定用最終試料液1μLをGC-MSに注入して測定を行う(注37)。ただし、測定時には、注入試料数の10%程度の割合で検量線の間濃度の標準液についても測定し、その濃度の値を確認する。もし、調製した検量線用標準液の濃度の±20%を外れた場合は、測定を中止し、GC-MSを再調整する。そして、RFを確認後、測定を再開する。

## 10 同定、定量及び計算

測定対象物質の存在の確認及び同定作業を行った後、存在する場合は定量を行う。

### (1) 同定

#### (ア) PBDEsの同定

対象物質の定量イオン及び確認イオンのピークの保持時間と標準品のそれと比較して±5%以内に出現すること(注38)、並びに対象物質の確認イオンのピークと定量イオンのピークとの相対強度比が標準品のそれと比較して±20%以下であれば、PBDEsとして同定する。

### (イ) サロゲート物質の同定

サロゲート物質の定量イオン及び確認イオンのピークの保持時間と標準品のそれと比較して±5%以内に出現すること(注38)並びに対象物質の確認イオンのピークと定量イオンのピークとの相対強度が標準品のそれと比較して±20%以下であれば、サロゲート物質として同定する。

### (2) 定量(注39)

下記の計算式を用いて各異性体濃度を算出する。

$$\text{検出量(pg)} = (A_s \times C_{is}) / (A_{is} \times RF)$$

ここで、 $A_s$  : 対象物質の測定イオンのピーク面積

$A_{is}$  : サロゲート物質の測定イオンのピーク面積

$C_{is}$  : 試料に添加したサロゲート物質質量 (pg)

### (3) 回収率の確認

シリンジスパイクを用いた場合は以下に示す計算式でサロゲート物質(クリーンアップスパイク)の正確な回収率を確認する。この回収率が50%以上120%以下の範囲から外れるときは前処理操作から再分析を行う。

$$R_c = (A_{csi} / A_{rsi}) \times (Q_{rsi} / RR_{Frs}) \times (100 / Q_{csi})$$

ここで、 $R_c$  : サロゲート物質の回収率

$A_{csi}$  : サロゲート物質のピーク面積

$A_{rsi}$  : シリンジスパイクのピーク面積

$Q_{rsi}$  : シリンジスパイクの添加量 (pg)

$Q_{csi}$  : サロゲートの添加量 (pg)

$RR_{Frs}$  : サロゲート物質のシリンジスパイクに対する相対感度

$$RR_{Frs} = (Q_{rs} / Q_{cs}) \times (A_{cs} / A_{rs})$$

ここで、 $Q_{rs}$  : 標準液中のシリンジスパイクの量 (pg)

$Q_{cs}$  : 標準液中のサロゲート物質の量 (pg)

$A_{cs}$  : 標準液中のサロゲート物質のピーク面積

$A_{rs}$  : 標準液中のシリンジスパイクのピーク面積

## 1 1 分析精度管理

本調査マニュアルの「II. 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具・装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記録しなければならない。

## 1 2 注意事項

(注1) 試料の分析を開始する前に、記載した検出下限値を達成できることを確認しておく。達成できない場合は、試料量を増やすなどの対策を講じる。ただし、本測定は高分解能 GC-MS を使用するため、表 1 に記載した検出下限値は十分達成できるものと推定されることから、もし達成できない場合には、機器の性能等を再点検する。

(注2) PBDEs は光分解を受けやすい性質を有するために、直射日光等の強光下での操作は避け、可能な限り遮光された条件下で前処理操作を行う。操作過程で得られる PBDEs 含有試料液等は、褐色あるいは遮光した容器に入れて低温で保管する。

(注3) 例 メルク社製 kieselgel 60 (60~230 mesh、Art 7734)(備考1)。

(注4) 例 関東化学社製の残留農薬試験用メタノール(1,000倍濃縮検定品)(備考1)。

(注5) 測定対象としたサロゲート物質及び native 標準品は、現在までに Cambridge Isotope Laboratories 社と Wellington 社から市販されている TriBDE ~ DeBDE の全標準品とした。ただし、両社以外に Accu Standard 社から PBDEs の native 標準品として、TriBDE (9 異性体)、TeBDE (12 異性体)、PeBDE (8 異性体)、HxBDE (7 異性体)、HpBDE (2 異性体)、OcBDE (2 異性体) 及び NoBDE (1 異性体) の計 41 異性体が市販されている。従って、精度管理上問題がなければ適宜測定対象異性体を追加してもかまわない(備考1)。

(注6) ADVANTEC 社製 GB-140 等(備考1)。

(注7) 例 和光純薬社製の活性炭混合シリカゲル(ダイオキシン類分析用)等(備考1)。

(注8) ここに記載しているガラスカラムクロマト管とは、本体部分がガラス製のものであるならば、コック部分等の一部部品がテフロン製のものであっても使用してよい。また、多層シリカゲルカラムクロマトの調製法の詳細は、ダイオキシン類分析マニュアル等を参照する(参考例:ダイオキシン類に係る土壌調査測定マニュアル 平成12年1月 環境庁水質保全局土壌農薬課)。

(注9) 例 ポリトロン(キネマティカ社製)(備考1)。

- (注 10) ODS やポリマーなどを充填した固相抽出カートリッジや固相ディスクを用いることで、ジクロロメタン抽出の場合と同等の抽出率が得られる場合は、固相抽出を用いることができる。ただし、使用前に、プレコンタミの確認をし、十分洗浄したものを使用する。
- (注 11) 水質試料は、採取後、冷暗所に保管し、出来るだけ早く抽出操作に着手する。長期間保存することで微生物等によるフロックが形成しないように注意する。また、試料の前処理時に試料中に多量の浮遊物質が存在する場合には、抽出する前にガラス繊維ろ紙で試料をろ過する。そして、このろ紙を少量のジクロロメタンで超音波抽出（15分；2回）し、この抽出液をろ液に合わせた後、抽出操作に移る。ただし、サロゲート物質は、ろ過する前に添加しておく。
- (注 12) 同族体毎に最低 1 種類のサロゲート物質を添加する。表 3 に記載のサロゲート物質は、各同族体のピークが検出される保持時間帯のほぼ中間に検出されるサロゲート物質を選択している。また、より高精度な分析を達成することを目的として、市販標準品が存在するならば同族体毎に複数のサロゲート物質を添加することができる(例：4 臭素化体；3,3',4,4'-TeBDE (BDE77), 5 臭素化体；2,2',4,4',6-PeBDE (BDE100), 2,3',4,4',5-PeBDE (BDE118), 3,3',4,4',5-PeBD (BDE126), 6 臭素化体；2,2',4,4',5,6'-HxBDE (BDE154))。さらに、本分析法の記載時には、<sup>13</sup>Cの 8 臭素化体 (OcBDE) や 9 臭素化体 (NoBDE) が現存していないために、OcBDEのサロゲート物質の代わりに<sup>13</sup>C-2,2',3,4,4',5',6-HpBDEを、NoBDEのサロゲート物質代わりに<sup>13</sup>C-DeBDEを用いて定量することを推奨する。従って、今後、上記サロゲート物質が市販された場合には、速やかに本分析法に導入し、より高精度なPBDEsの分析法として定量することが望ましい。
- (注 13) ジクロロメタンは沸点が低いため、その濃縮時においては、試料が乾固しないように注意する。また、乾固する前に、少量のヘキサンを数回添加しながら完全にヘキサンに溶媒転溶する。
- (注 14) 底質試料の抽出機器として、迅速型抽出装置 (ASE や超音波還流抽出装置等) を用いて抽出液を調製してもかまわないが、その抽出法がトルエン還流抽出法やトルエンソックスレー抽出法と同等以上の抽出率が得られることを予め確認する必要がある。
- (注 15) 底質試料の場合、試料の乾燥に伴って固化していくので、風乾後、乳鉢等で十分

すりつぶしふるいにかけて均一な試料を調製する。

- (注 16) 添加回収試験を行った際に、低回収率の主因は、試料の乾燥度に相関していることがよく観察されるので必ず恒量に達した試料を用いて抽出を行う。
- (注 17) トルエン還流抽出法においては、試料と抽出溶媒が共存しているために、トルエンが冷却すると抽出された PBDEs が、底質に再吸着される可能性があるため、抽出終了後速やかにろ過を行う。また、底質試料の測定時にしばしば妨害物質となる硫黄化合物等を除去するために、本分析法では銅粉末を使用しているが、その代わりに銅チップ等を用いてもよい。
- (注 18) 抽出フラスコ内等に、付着した目的成分や残渣中に残存する目的成分を回収する目的で加える。
- (注 19) ロータリーエバポレーターや K.D.濃縮器での操作時に、*n*-ノナン 100  $\mu$ L を予め添加しておくこと、試料の乾固を未然に防ぐことができ便利である。
- (注 20) 生物試料は、試料の前処理時まで -20 以下のフリーザーで大切に保管すること。また、湿重量測定時には、ペーパータオル等で余分な水分を十分除去した後、正確に秤量する。データ誤差の多くの原因が、機器分析データではなく、単純な秤量ミス等によることが多い。
- (注 21) 7 臭素化体以上の高臭素化体の場合、測定時に著しい感度低下が観察されることより、分析機器の感度性能と各試料中の実測濃度を十分に考慮した上で、適切なサロゲート物質の添加濃度を決定する。
- (注 22) 試料にアルカリ添加後、長時間静置した場合には、高臭素化体の分解が起こることがあるので、アルカリ分解処理は振とうしながら行うことを推奨する。
- (注 23) 激しく振とうすると、水とヘキサンの界面に不溶性物質が生じることがあるので注意する。
- (注 24) ガラスカラムに各シリカゲルを湿式充填する際には、カラムに弱い振動を与えながら均一に充填できるように注意する。また、ヘキサン洗浄時においてカラム内に気泡等が観察された場合は、窒素ガス等でカラム内を加圧して気泡が無くなるようにする。また、PBDEs の光分解を防ぐ目的で、精製時には、ガラスカラムをアルミホイル等で遮光したり、あるいは褐色のガラスカラムを用いることを推奨する。
- (注 25) 固相抽出カートリッジ等を用いて抽出を行った時に、その溶離液等にアセトンや

ジクロロメタン等の比較的極性をもつ溶媒が含まれている場合には、ヘキサンに溶媒転溶してからカラムに負荷する。

(注 26) 事前に標準混合液を用いて多層シリカゲルカラムクロマトにおける PBDEs の溶出パターンを確認する。

(注 27) 本分析法では、全試料の精製の第 1 段階で多層シリカゲルカラムクロマト法を採用している。その他の方法としては、ダイオキシン類の精製時に繁用されている、硫酸処理法とシリカゲルカラムクロマト法を組み合わせた精製法が想定されるが、その場合には、上記の精製法に対する最適条件等を詳細に検討し、同等の結果が得られることを確認してから行う必要がある。

(注 28) より高精度な定量を行うことを目的として、サロゲート物質として使用していない他の<sup>13</sup>Cラベル化体をシリンジスパイクとして用いることを強く推奨する。例えば、<sup>13</sup>C-2,2',3,4,4',6-HxBDE (Wellington社製) 等を用いる。(備考 1)

(注 29) 通常硝酸銀シリカ等を増量した多層シリカゲルカラムの精製で、殆どの夾雑物を除去することが可能であるが、希に多量の夾雑物が最終試験液に共存し定量が妨害される場合がある(最終試験液が着色)。この場合は、もう一度、この試験液を、多層シリカゲルカラムを通して再精製するか、あるいは前処理時に、試料に対してアルカリ分解処理 [ 1 mol/L KOH/EtOH (水 10% 含有) 150 mL で 2 時間振とう ] を行うことによって改善できる。そして、このアルカリ分解処理液を濃硫酸等で攪拌しながら穏やかに中和処理を行い、その後、プフナーロートで減圧下、ろ過を行う。次に、ろ液に対して水 120 mL とヘキサン 75 mL で液液分配抽出(2 回抽出 ; 30 分振とう)を行い、水洗後、脱水、ろ過を行い、最後に KD 濃縮器で濃縮することにより前処理液を調製する。

(注 30) 空試験試料中に検出された各異性体の実測値が、試料中のその 10 % 以上である場合には、原則的にその値を採用しないと共に、コンタミの原因を究明した後、再分析を行う必要がある。

(注 31) 高精度な DeBDE の定量分析を行うには、四重極型 MS では定量イオンのモニターが、ECD-GC では、サロゲート物質を使用できないことから、本測定法では二重収束型 MS による測定法を採用している。ただし、DeBDE は熱や光等に対して不安定であるため、260 °C 以上で GC 注入口部やカラムオープン内で熱分解を起こす可能性があることより、必ずサロゲート物質として<sup>13</sup>C-DeBDE を使用しなければ



ならない。また、その使用によって、定量性等への阻害的影響は殆どなくなるものと推察される。ただし、その様な懸念を完全に払拭することを考慮して、クーロンカラムによるGCへの注入方式を採用することも考慮される。

(注 32) 将来的により分離能や定量性が高い分析条件やキャピラリーカラム等に関する研究例が報告された場合には、それらの再現性や性能を十分確認した後、新規に採用しても構わない。すなわち、本分析法は、現時点までの多くの研究報告で採用されている PBDEs の分析条件を基礎として、そのカラムや GC-MS 条件等を記載しているためであり、例えば、最近の知見では高臭素化体(7 臭素化体以上、特に DeBDE) を定量する場合には、カラムオープン内での熱分解や感度低下を防ぐ目的で、より膜圧が薄く (0.1  $\mu\text{m}$ )、またその分離に問題がなければより短いカラムの使用が推奨されるといった報告があるためである。

(注 33) 例 J&W 社製 DB-17ht 等 (備考 1)。

(注 34) 例 J&W 社製 DB-5 等 (備考 1)。

(注 35) 定量イオンが妨害を受ける場合は、妨害を受けていない確認イオンを用いて定量を行う。

(注 36) 4~6 臭素化体の分析のために複数のサロゲート物質を添加した場合には、表 5 に示す定量イオンをモニターする。また、この時に、測定対象異性体により近い保持時間を有するサロゲート物質の回収率を用いて、算出、定量を行う。

(注 37) 試料間のクロスコンタミを防止するため、高濃度の試料測定後は、溶媒を測定するなどしてキャリアオーバーが無いことを確認する。

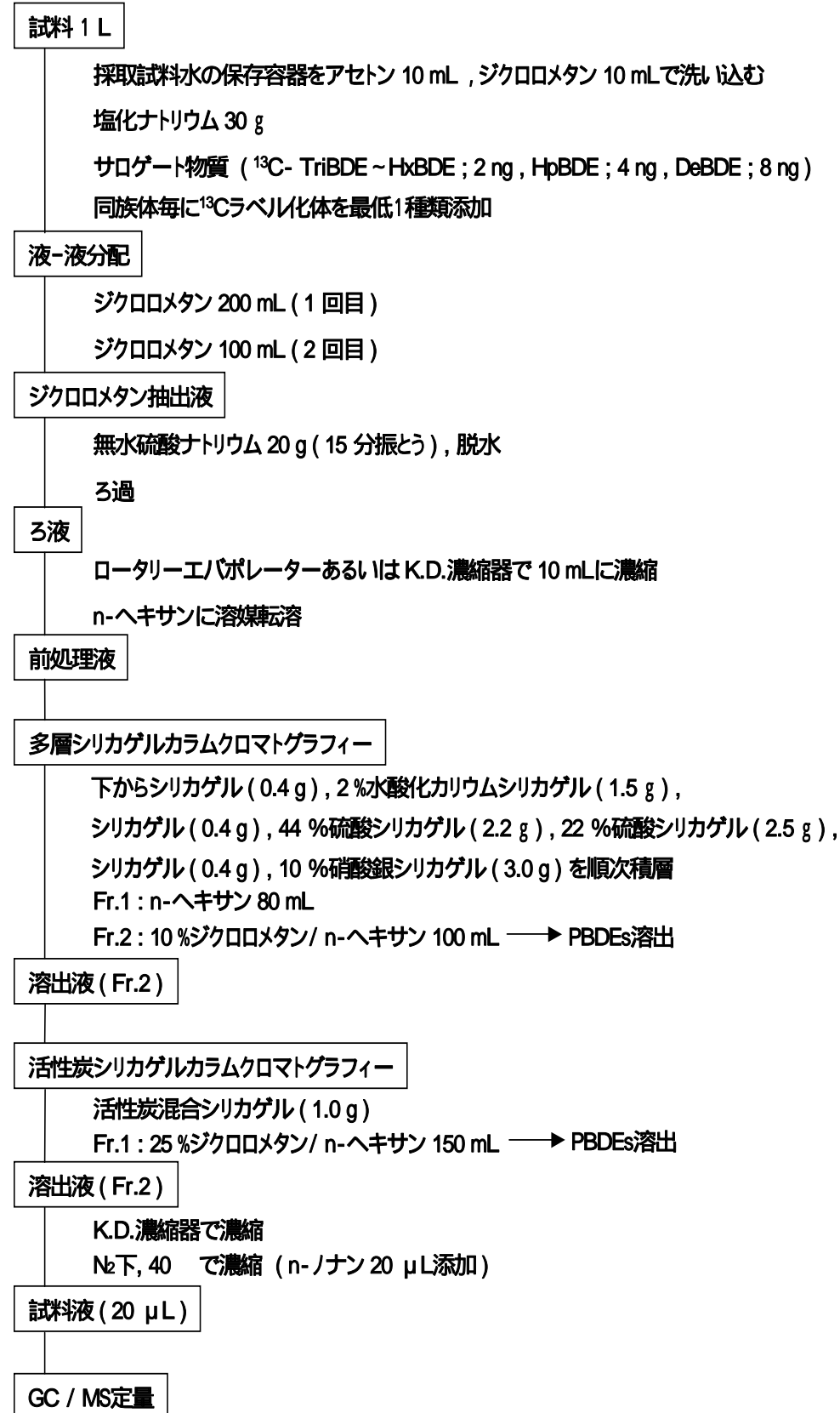
(注 38) クリーンアップが不十分で最終試料液中に夾雑物が多い場合には、保持時間が遅くなることもある

(注 39) 3 臭素化体である 2,3',4-TriBDE(BDE33)と 3,3',4-TriBDE(BDE35)は、記載したカラム条件では分離、定量することが出来ないため、この 2 種のピーク面積を合わせた形式で、算出、定量する。また、この両異性体の分離に関する報告は、現時点では見あたらない。

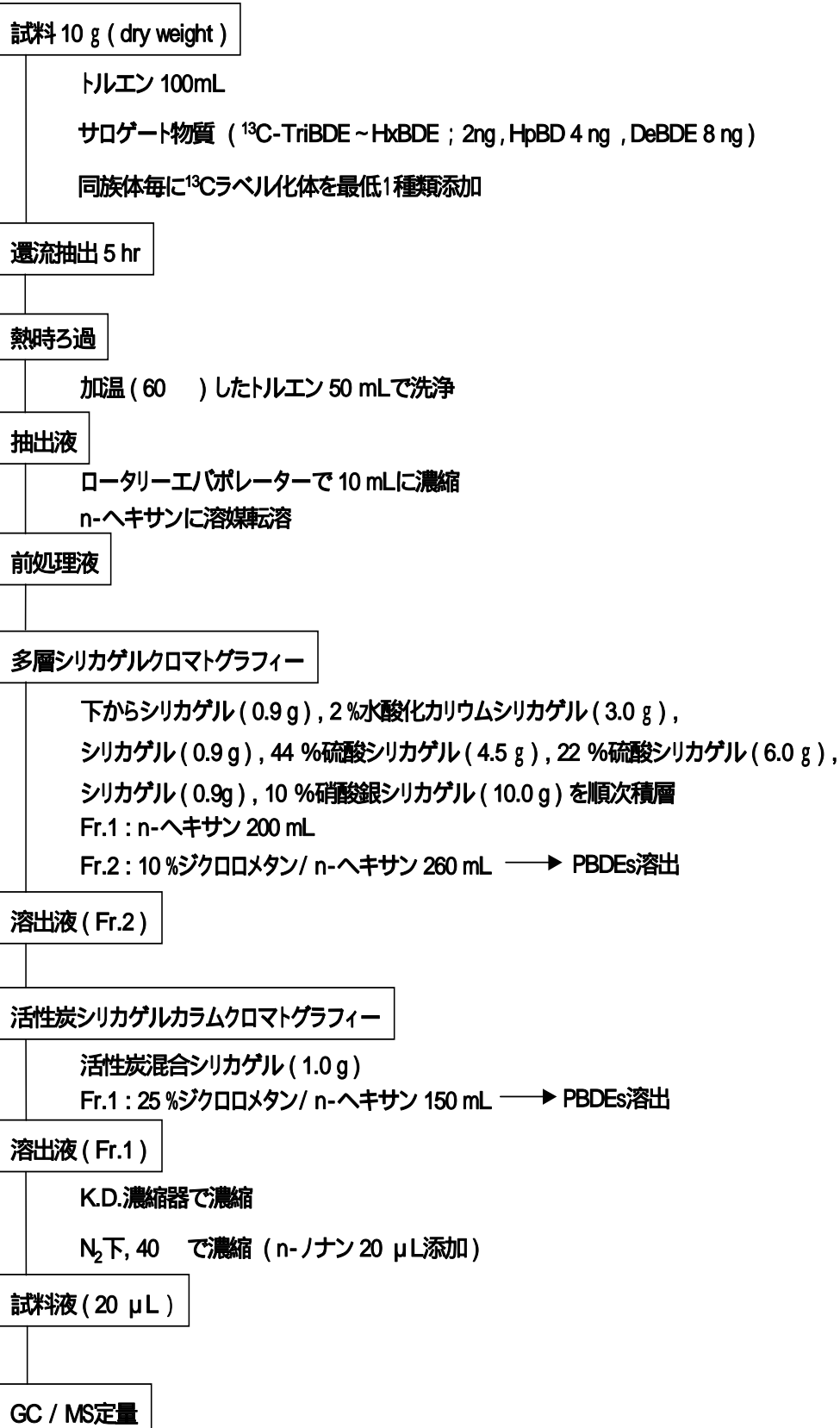
(備考 1) ここに示す商品は、このマニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして例示したが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能のものであれば用いてもよい。

## 分析法フローチャート

### 水質試料



## 底質試料



## 生物試料

