

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

分担研究報告書

ダイオキシン類等の有害化学物質による食品汚染実態の把握に関する研究

(3) 食品中の臭素化ダイオキシン類及びその関連化合物の汚染調査

分担研究者 中川礼子 福岡県保健環境研究所

研究要旨

臭素化ダイオキシン類は、プラスチック等に使用される臭素系難燃剤の製造過程や臭素系難燃剤を含む製品の燃焼によって生成することが明らかとなっており、毒性は塩素化ダイオキシン類とほぼ同等であることが報告されている。また、デカブロモジフェニルエーテル (DeBDE)、テトラブロモビスフェノール A (TBBPA) 等の臭素系難燃剤は、現在もテレビやパソコン等の電化製品や、カーテン等の繊維に使用されており、これらの臭素系難燃剤の人体への影響が懸念されている。我々は、人への暴露源と考えられる食品の安全性を確保するため様々な食品における臭素化ダイオキシン類及びその関連化合物の汚染実態を明らかにすることを目的として研究を行っている。本年度は、(1) 臭素系ダイオキシン類 (PBDD/DFs、MoBrPCDD/DFs)、臭素化ジフェニルエーテル類 (PBDEs) に、臭素化ビフェニル (PBBs)、コブラーナ塩素・臭素化ビフェニル (PXBs) を加えた新たな分析法の検討と、その分析法を用いた個別食品での汚染調査、(2) 三地域（九州、中国・四国、中部）の魚介個別食品 45 試料についてヘキサブロモシクロドデカン (HBCDs) を分析した。その結果、(1) では、高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計 (HRGC/HRMS) の条件検討の結果、PBDEs、PBBs、PXBs 及び TBBPA については 1 種類のカラム (SLB-5MS) で測定が可能であった。また、高臭素化体における高感度化の検討では、カラムの MS 側を一時的に冷却することによって、デカブロモジフェニルエーテル (DeBDE) の高感度検出ができた。魚試料の汚染調査では、アナゴから 4 臭素化ダイオキシンが微量に検出されたが、その他の魚からは PBDD/DFs は検出されなかった。PBDEs ではすべての魚から #49、#47、#100、#99、#154、#153、#209 などの異性体が検出され、PBBs では 4 種類の魚から 4-6 臭素化体の異性体が検出された。PXBs は今回の魚試料からはいずれの異性体も検出されなかった。(2) では、 Σ HBCDs の中央値は、九州 (0.04 ng/g ww, 1.1 ng/g lw) < 中国・四国 (0.08 ng/g ww, 7.0 ng/g lw) < 中部 (1.2 ng/g ww, 100 ng/g lw) の順に汚染が高くなり、この結果からも、海産食品の HBCD 汚染が地域によっては、進んでいることが示唆された。

研究協力者

芦塚由紀

(福岡県保健環境研究所)

村田さつき

(福岡県保健環境研究所)

堀 就英

(福岡県保健環境研究所)

安武大輔

(福岡県保健環境研究所)

堤 智昭

(国立医薬品食品衛生研究所)

A 研究目的

臭素系難燃剤は、国内で現在もテレビやパソコン等の電化製品や、カーテンなどの繊維に使用されている。これら臭素系難燃剤の人体への影響や、毒性の高い臭素系ダイオキシン類の発生が懸念されてきた。そのため国内ではメーカーの自主規制により、1990年以降、臭素化ジフェニルエーテル類(PBDEs)については大きく需要が減少している。しかしながら、デカブロモジフェニルエーテル(DeBDE)は現在も使用されており、またテトラブロモビスフェノール A (TBBPA) やヘキサブロモシクロドデカン(HBCDs)の需要は増加している。また、最近では、国内では難燃剤として使用されていない臭素化ビフェニル(PBBs)の環境試料からの検出^{1),2)}や、非意図的な生成物と考えられるコプラナー塩素・臭素化ビフェニル(PXBs)の魚介類からの検出³⁾が報告されている。これらの臭素系有機化合物の汚染実態についてはまだデータが少ない。臭素系難燃剤を使用した製品の廃棄が今後ピークを迎えることが指摘されることから、臭素系有機化合物の環境や食品における汚染実態調査を行っていくことが必要であると考えられる。特に、人への主な暴露源と考えられる食品における汚染実態を明らかにし、人体影響の評価、食品の安全を確保することは急務である。我々はこれまで調査を行ってきた臭素系ダイオキシン(PBDD/DFs)と臭素系難燃剤のPBDEs、TBBPA、HBCDsに加えて、今回は新たにPBBs及びPXBsの分析を同時に行うことを試み、分析法の検討を行った。検討した分析法によって、魚介類中のPBDD/DFs、PBDEs、PBBs、PXBsを分析した。

さらに高臭素化体(DeBDE)の高感度化についても一部検討した。また、近年使用が多いとされるHBCDsについては、H18年度に分析法を検討し、マーケットバスケット食事試料を対象に分析を行った。その結果、第10群の試料(魚介類が構成食材)からの検出がほとんどであったことから^{4),5)}、今年度は同様の分析法を用いて3地域の個別食品(魚介類)の汚染調査を実施し、これまで得られた他の臭素系難燃剤による汚染と比較した。

B 研究方法

1. 臭素化ダイオキシン類(PBDD/DFs)、臭素化ジフェニルエーテル(PBDEs)、臭素化ビフェニル(PBBs)及びコプラナー塩素・臭素化ビフェニル(PXBs)の分析

1-1 高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(HRGC/HRMS)における測定条件の検討

今年度から新たに分析を行うPBBs及びPXBsについて、高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(HRGC/HRMS)における測定条件を検討した。さらに、これまで分析を行ってきたPBDD/DFs、PBDEs、TBBPA(エチル化体)も含めた全ての臭素系化合物の測定を、1種類のカラムで測定できないかを検討した。即ち、いくつかの市販のGCカラムについて、これらの臭素系化合物の測定条件を検討し、異性体分離及び感度を比較検討し、その有用性を評価した。

1-1-1 標準品

PBDD/DFsはCambridge Isotope Laboratories社製のNative体、¹³C₁₂-ラベル体標準品(4~8臭素化体)を希釈して使用した。PBDEsはWellington

Laboratories 社製の Brominated Diphenyl Ether Calibration Solution 及びクリーンアップ用標準溶液 (#3, #15, #28, #47, #99, #153, #154, #183, #197, #207, #209)、シリンジスパイクは $^{13}\text{C}_{12}$ -2,2',3,4,4',5'-HxBDE (#138L) を使用した。PBBs は Wellington 社製及び AccuStandard 社製の臭素化ビフェニル標準溶液を、PXBs は Cambridge Isotope Laboratories 社製の標準品を使用した。TBBPA は Cambridge Isotope Laboratories 社のテトラブロモビスフェノール A 標準溶液 (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ メタノール溶液) 及びテトラブロモビスフェノール A-ring- $^{13}\text{C}_{12}$ (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ メタノール溶液) をジエチル硫酸でエチル化したものを測定に用いた。

1-1-2 測定機器

高分解能質量分析計 (HRMS) :

Micromass Autospec ULTIMA

高分解能ガスクロマトグラフ (HRMS) :

Hewlett Packard 社 HP6890

1-2-3 GC カラム及び測定条件

検討したカラムは以下に示す 5%フェニルメチルポリシロキサン系の 4 種類である。

①DB-5, 0.25 μm i.d. \times 30 m,

膜厚 0.1 μm (Agilent)

②ENV-5MS, 0.25 μm i.d. \times 30 m,

膜厚 0.1 μm (関東化学)、

③SLB-5MS, 0.25 μm i.d. \times 30 m,

膜厚 0.1 μm (SUPELCO)

④Factor Four VF-5MS, 0.25 μm i.d.

\times 30 m, 膜厚 0.1 μm (Varian)

各異性体のモニターイオンを表 1~6 に、その他の測定条件を表 7 に示す。

表 1. PBDD/DFs 測定に用いたモニターイオン

	定量イオン	確認イオン
TeBDD	499.6904	497.6924
PeBDD	577.6009	579.5989
HxBDD	657.5094	655.5114
OcBDD	815.3282	813.3302
TeBDF	483.6955	481.6975
PeBDF	561.6060	563.6039
HxBDF	641.5145	639.5165
HpBDF	719.4248	721.4228
$^{13}\text{C}_{12}$ -TeBDD	511.7307	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -PeBDD	589.6412	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -HxBDD	669.5496	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -OcBDD	827.3685	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -TeBDF	495.7357	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -PeBDF	573.6462	—

表 2. Mono-Br-PCDD/DFs 測定に用いたモニターイオン

	定量イオン	確認イオン
Mono-Br-TriCDD	365.8436	367.8410
Mono-Br-TeCDD	399.8045	401.8019
Mono-Br-PeCDD	435.7628	433.7655
Mono-Br-HxCDD	469.7237	467.7265
Mono-Br-HpCDD	503.6847	505.6819
Mono-Br-TriCDF	349.8487	351.8460
Mono-Br-TeCDF	383.8096	385.8070
$^{13}\text{C}_{12}$ -Mono-Br-TeCDF	411.8448	—

表 3. PBDEs 測定に用いたモニターイオン

	定量イオン	確認イオン
TriBDE	405.8027	407.8006
TeBDE	485.7111	483.7132
PeBDE	563.6216	565.6196
HxBDE	643.5301	641.5321
HpBDE	721.4406	723.4386
OcBDE	641.5145	639.5160
NoBDE	719.4250	721.4230
DeBDE	799.3335	797.3355
$^{13}\text{C}_{12}$ -TriBDE	417.8429	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -TeBDE	497.7514	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -PeBDE	575.6619	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -HxBDE	655.5704	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -HpBDE	733.4809	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -OcBDE	653.5547	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -NoBDE	731.4652	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -DeBDE	811.3737	—

表 4. PBBs 測定に用いたモニターイオン

	定量イオン	確認イオン
TriBB	389.8077	391.8057
TeBB	469.7162	467.7182
PeBB	547.6266	549.6246
HxBB	627.5351	625.5371
HpBB	705.4456	707.4436
OcBB	785.3541	783.3561
NoBB	863.2645	865.2625
DeBB	943.1730	941.1750
$^{13}\text{C}_{12}$ -TeBB	481.7565	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -HxBB	639.5754	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -OcBB	797.3944	—
$^{13}\text{C}_{12}$ -DeBB	955.2133	—

表 5. PXBs 測定に用いたモニターイオン

	定量イオン	確認イオン
Mono-Br-TeCB	369.8299	371.8279
Mono-Br-PeCB	403.7910	405.7890
Tri-Br-DiCB	459.7279	457.7299
¹³ C ₁₂ - Mono-Br-TeCB	381.8702	—
¹³ C ₁₂ - Mono-Br-PeCB	415.8312	—
¹³ C ₁₂ - Tri-Br-DiCB	471.7681	—

表 6. TBBPA(エチル化体)測定に用いたモニターイオン

	定量イオン	確認イオン
TBBPA	528.7296	556.7609
¹³ C ₁₂ - TBBPA	540.7699	—

表 7 臭素系化合物の高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計における測定条件

化合物名	GC 測定条件			MS 条件
	注入方式及び注入量	注入口温度	昇温条件	
PBDD/DFs	スプリットレス, 1 μ L	280 $^{\circ}$ C	130 $^{\circ}$ C—(20 $^{\circ}$ C/min)—240 $^{\circ}$ C—(5 $^{\circ}$ C/min)—320 $^{\circ}$ C(7.5 min)	イオン源温度: 270 $^{\circ}$ C 分解能: 10000 以上
PBDEs	スプリットレス, 1 μ L	260 $^{\circ}$ C	125 $^{\circ}$ C(1 min)—(20 $^{\circ}$ C/min)—200 $^{\circ}$ C—(10 $^{\circ}$ C/min)—330 $^{\circ}$ C(5.2 min)	
TBBPA (エチル化体)	スプリットレス, 1 μ L	280 $^{\circ}$ C	120 $^{\circ}$ C(1 min)—(20 $^{\circ}$ C/min)—300 $^{\circ}$ C(8 min)	
PBBs, PXBs	スプリットレス, 1 μ L	260 $^{\circ}$ C	120 $^{\circ}$ C(1 min)—(20 $^{\circ}$ C/min)—200 $^{\circ}$ C(10 min)—(10 $^{\circ}$ C/min)—330 $^{\circ}$ C(2 min)	

1-2 高臭素化体の HRGC/HRMS 測定における高感度化についての検討

臭素系化合物の中で 8 から 10 の臭素が付加した高臭素化体は HRGC/HRMS 測定における感度が低臭素化体に比べて悪く、100 分の 1 から 10 分の 1 程度であるという機器分析上の課題がある。これを解決するために、目的化合物の溶出時間に GC カラムの MS 側を液化炭酸で一時的に冷却する方法 (図 1) を試みた。これにより、ピーク形状がシャープになり、感度向上が期待できる。カラムを部分的に冷却するために、SGE 社製の溶媒除去大容量注入装置 (SCLV) のコールドトラップ T 字管を使用した。

HRGC/HRMS 測定条件

使用カラム: HP-5MS

注入口温度: 260 $^{\circ}$ C

昇温条件: 120 $^{\circ}$ C (2 min) \rightarrow 20 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 200 $^{\circ}$ C \rightarrow 10 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 300 $^{\circ}$ C (1 min) \rightarrow 20 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 310 $^{\circ}$ C (4.5 min)

コールドトラップ時間: 40 秒

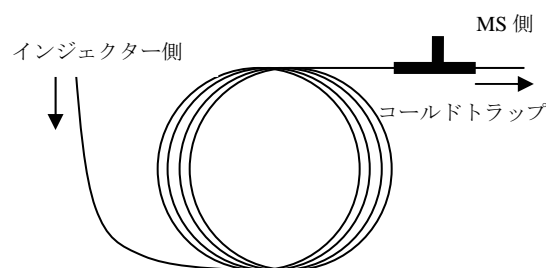


図 1 分析カラムの冷却方法

1-3 PBBs 及び PXBs のカラムクロマトグラフィーにおける分画試験

食品試料における PBBs 及び PXBs の前処理法を検討するため、これまで PBDD/DFs 及び PBDEs 分析の際の精製操作に用いてきたシリカゲルカラム、フロリジルカラム、活性炭カラムにおける PBBs 及び PXBs の分画試験を行った。

3 種類のカラムを表 8 に示す条件でコンディショニングした後、PBBs 及び PXBs の Native 体標準溶液を添加した。それぞれの画分の溶出溶媒 (表 8) を流した後、濃縮し、¹³C₁₂-ラベル体混合溶液 (シリンジ

スパイク)を加えて測定試料とした。HRGC/HRMSで測定し、各異性体の回収率を求めた。

表8 カラムクロマトグラフィーの調製法

	調製法	溶出溶媒
シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Wako S-1)	活性化: 130°Cで3時間 充填量: 1 g、乾式充填 コンディショニング: 10%ジクロロメタン/ヘキサン 100 mL	10%ジクロロメタン/ヘキサン 150 mL
フロリジルカラムクロマトグラフィー(関東化学)	活性化: 130°Cで3時間後、1%含水に調製 充填量: 5 g、乾式充填 コンディショニング: ヘキサン 100 mL	第1画分: ヘキサン 150 mL 第2画分: 60%ジクロロメタン/ヘキサン 200 mL
活性炭カラムクロマトグラフィー (ナカライテスク)	トルエンで洗浄し、無水硫酸ナトリウムに分散させたもの (1:1000, w/w)	第1画分: 10%ジクロロメタン/ヘキサン 50 mL 第2画分: トルエン 200 mL

1-4 実試料の分析

1-4-1 分析試料

魚介類試料として、岡山及び鹿児島で購入した魚を用いた。試料の詳細を表9に示す。

1-4-2 分析方法

均一化した試料 50 g を特注ビーカー (直径9 cm、高さ7 cm) に精秤し、-20°Cで凍結した後、凍結乾燥機(VIRTIS社製AD2.0 ES-BC)で約35時間かけて乾燥させた。乾燥した試料をスパーテルで細かく砕き、洗浄したガラスビーズを混ぜながら、高速溶媒抽出装置の抽出セル(99 mL)に充填した。クリーンアップスパイクの $^{13}\text{C}_{12}$ -PBDD/DFs(4-8 臭素化体 125-500 pg)、 $^{13}\text{C}_{12}$ -PBDEs(1-10 臭素化体 500-2500 pg)、

$^{13}\text{C}_{12}$ -1-Br-2,3,7,8-TeCDD (50 pg)、 $^{13}\text{C}_{12}$ -PBBs(250-1250 pg) 及び $^{13}\text{C}_{12}$ -PXBs(250-500 pg)を添加した後、高速溶媒抽出を行った。高速溶媒抽出の条件を表10に示す。抽出液は40°C以下で約100 mLになるまで減圧濃縮した。ここで抽出液の一部を採取し、乾固させた後の残物の重量を脂肪量とした。硫酸20 mLを加えて3回処理を行った後、ヘキサン洗浄水20 mLで洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥させた後、2 mLまで減圧濃縮し、シリカゲルカラムで精製した。溶出液150 mLを減圧濃縮し、ヘキサン5 mLに置換した後、フロリジルカラムに負荷し、第1画分(PBDEs、PBBs及びPXBs画分)と第2画分(PBDD/DFs画分)に分画した。第1画分は約1 mLまで濃縮し、さらに夾雑物を除去するために、DMSO分配を行い、測定試料とした。第2画分は濃縮し、ヘキサン5 mLに置換した後、活性炭カラムで精製を行い測定試料とした。PBDEs、PBBs及びPXBsの最終検液はリンジスパイク $^{13}\text{C}_{12}$ -2,2',3,4,4',5'-HxBDE (#138L)を加えて25 µLとした。PBDD/DFsの最終検液はリンジスパイク $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,4,7,8-PeBDFを加えて15 µLとした。PBDD/DFs、PBDEs、PBBs及びPXBsをそれぞれHRGC/HRMSで測定した。GCカラムは、PBDD/DFsはDB-5を、その他の化合物(PBDEs、PBBs、PXBs)については、SLB-5MSを使用した。分析フローを図2に示す。

表9 分析に用いた魚試料

魚種名	産地		プールした 個体数	平均体長 (cm)	平均体重 (g)
アナゴ	瀬戸内	天然	9	42.6	120
アジ	鹿児島	天然	4	32.3	360
キス	瀬戸内	天然	10	21.7	89.1
サバ	鹿児島	天然	3	34.1	573
タイ	瀬戸内	天然	1	42.5	1060

表10 高速溶媒抽出の条件

機器	DIONEX 社製 ASE-300
抽出条件	オープン温度 100℃
抽出圧力	1500psi
抽出溶媒	ジクロロメタン/ヘキサン (1:9)
オープン昇温時間	7分
設定温圧保持時間	10分
フラッシュ容積	セル容量の40%
ガスパージ時間	120秒
静置サイクル数	3回
充填用ガラスビーズ	使用前にアセトン/ヘキサン(2:1)、ジクロロメタン/ヘキサン(1:9)で洗浄

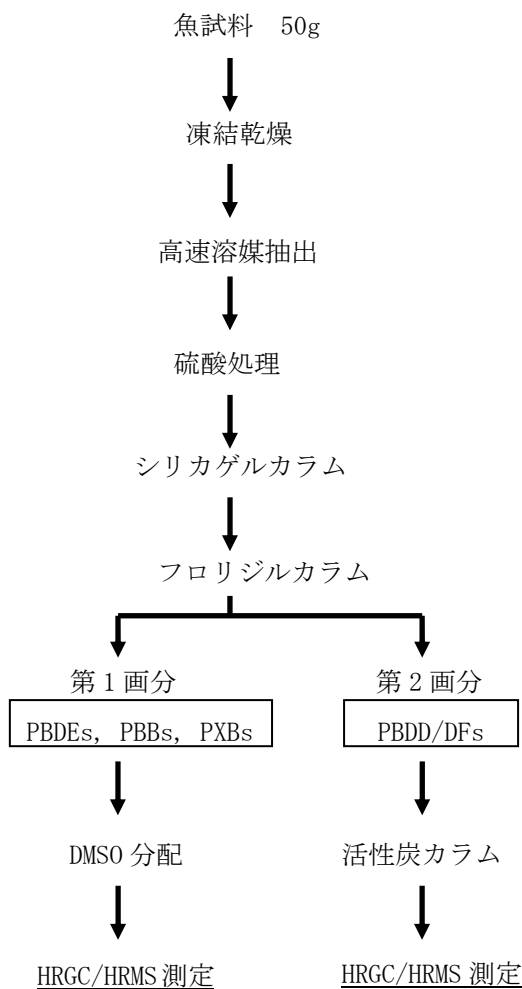


図2 臭素系化合物の分析フロー

2 ヘキサブロモシクロドデカン(HBCDs)の分析

2-1 実験材料

2004年-2005年に九州地方(天草)、中部地方(三河湾、伊勢湾)、中国・四国地方(瀬戸内海)の鮮魚店から、各地域で捕れた魚介類を購入した。各15件、計45試料で生鮮魚介が44試料、加工食品が1試料であった。可食部をそれぞれフードプロセッサで均一化し、-20℃で保存したものをを用いた。

2-2 標準溶液及び試薬

標準品として、 α -、 β -、 γ -ヘキサブロモシクロドデカン[α -、 β -、 γ -1,2,5,6,9,10-Hexabromocyclo-dodecane]溶液(各50 μ g/mLトルエン溶液) Cambridge Isotope Laboratories社

製を用いた。クリーンアップスパイクは同社製の $^{13}\text{C}_{12}$ - α -、 $^{13}\text{C}_{12}$ - β -、 $^{13}\text{C}_{12}$ - γ -ヘキサブROMシクロドデカン ($50 \mu\text{g/mL}$ トルエン溶液) を用いた。

メタノール、ジクロロメタン、*n*-ヘキサンは関東化学のダイオキシン類分析用または PCB 分析用を用いた。

また、ゲルパーミエーション (GPC) 分画後の精製に、Varian 社製の Bond Elut PSA (500 mg, 3 mL) 固相ミニカラムを使用した。

2-3 機器及び測定条件

GPC 装置

ポンプ : Büchi Pump Module C-601

分画機器 : 東京理化学株式会社 EYELA FRACTION COLLECTOR DC-1500

カラム : Shodex CLNpak PAE800AC (8.0 mm ϕ \times 300 mm)

プレカラム : Shodex CLNpak PAE800AC (8.0 mm ϕ \times 40 mm)

流速 : 0.8 mL/min

移動相 : アセトン

LC/MS/MS

装置 : Waters Quattro Micro API

カラム : GL Sciences 社製 Inertsil ODS-3

粒径 : 5 μm 内径 : 2.1 mm 長さ : 150 mm

カラム温度 : 40°C

注入量 : 10 μL

移動相流量 : 0.2 mL/min

移動相 : 10 mM 酢酸アンモニウム : メタノール : アセトニトリル = 10 : 55 : 35

測定モード : ESI ネガティブ MRM 測定

キャピラリー電圧 : 2.0 kV

イオン源温度 : 130°C

モニターイオン :

Native-HBCDs ; 641>79 (定量), 639>79 (確認)

$^{13}\text{C}_{12}$ -HBCDs ; 653>79 (定量), 651>79 (確認)

2-4 分析操作

試料約 5 g を秤取し、 $^{13}\text{C}_{12}$ ラベル化 α -、 β -、 γ -HBCD 各 1ng をクリーンアップスパイクとして添加した。これをジクロロメタン 20 mL で 2 回ホモジナイズ抽出し、

ジクロロメタン層を無水硫酸ナトリウムに通して脱水させた後、減圧濃縮した。

これを 20 mL の 10%ジクロロメタン/*n*-ヘキサンに再溶解したのち、濃硫酸 5 mL を加えて攪拌処理し、2000 rpm で遠心分離した。上層を減圧濃縮後、0.2 mL のアセトンに再溶解した。この 1/2 量を GPC に注入した。

2-5 試料の精製及び測定溶液の調製

前処理を行って得られた試料の抽出液を 100 μL GPC に注入し、脂質の溶出直後の HBCDs 溶出画分を分取した。これを、窒素ガスで乾固し、トルエン/アセトニトリル (1 : 3, v/v) 混液 2 mL に溶解した。さらに、あらかじめ同混液 10 mL でコンディショニングした Varian 製 PSA カラムに負荷した後、トルエン/アセトニトリル混液 18 mL で溶出した。得られた溶出液を減圧濃縮後、窒素ガスで乾固し、少量のジクロロメタンでバイアルへ移した。バイアル内の溶媒を留去後、メタノール 50 μL に溶解し、測定サンプルとした。

C. 結果及び考察

1. 臭素化ダイオキシン類(PBDD/DFs)、臭素化ジフェニルエーテル(PBDEs)、臭素化ビフェニル(PBBs)及びコプラナー塩素・臭素化ビフェニル(PXBs)の分析

1-1 高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計(HRGC/HRMS)における測定条件の検討

これまではHRGC/HRMS測定で、臭素系化合物の種類によって異なるGCカラムを用いてきた。しかしながら、HRGC/HRMSにおけるカラム交換は非常に煩雑で時間がかかる。そこで、カラム交換の手間を省いて効率よく測定を行うために、現在行っている全ての臭素系化合物の分析を1種類のカラムで高感度に測定できないかを検討した。GCカラムとして5%フェニルメチルポリシロキサン系のDB-5、ENV-5MS、SLB-5MS、VF-5MSを検討した。

図3-5にPBBsをそれぞれ3種類のカラム(DB-5、ENV-5MS、SLB-5MS)で測定した際のクロマトグラムを示す。PBBsはいずれのカラムにおいても感度は良好であった。しかし、DB-5では4臭素化体の#80のピークに5臭素化体の#103の分解物と考えられるピークが重なった。図6-8にPBDD/DFsを測定した際のクロマトグラムを示す。PBDD/DFsはDB-5で測定した際に感度が良好であり、特に高臭素化体が高感度であった。SLB-5MSで測定した際は、開封直後では感度及び分離が良好であったが、徐々に高臭素化ダイオキシン(7,8臭素化体)のピーク強度が弱くなった。ENV-5MS、VF-5MSも8臭素化体のピーク強度が弱かった。図9-11にPBDEsを測定した際のクロマトグラムを示す。

PBDEsはいずれのカラムにおいても異性体分離は良好であった。10臭素化体の感度はDB-5とSLB-5MSで測定した場合が良好であった。SLB-5MSではTBBPA(エチル化体)についても良好な感度が得られた(図12)。

以上の結果より、今回検討したカラムでは、すべての臭素系化合物を1種類のカラムで分析することはできないと考えられた。そこでPBDEs、PBBs、TBBPA(エチル化体)はSLB-5MSで、PBDD/DFsはDB-5で測定することにした。今後、5%フェニルメチルポリシロキサン系以外のカラムについて同様の検討を行いたいと考えている。

1-2 高臭素化体のHRGC/HRMS測定における高感度化の検討

臭素系化合物では高臭素化体ほどHRGC/HRMSにおける感度が悪いため、高感度化が課題である。特に8臭素化ダイオキシンや10臭素化ジフェニルエーテルの感度は低臭素化体の100分の1から10分の1と極めて悪い。そこで、今回は分析カラムのMS側を液化炭酸で一時的に冷却することによって、感度を向上させることを試みた。図13にコールドトラップした場合としない場合のDeBDEのクロマトグラムを示す。DeBDEの保持時間直前に分析カラムのMS側の部分を一時的に冷却することによって、ピーク強度で1.3倍、S/N比で3倍の向上が見られた。また、ピーク形状についてもシャープな形状が得られるようになった。今後、他の異性体や試料において検討していきたい。

1-3 PBBs 及び PXBs のカラムクロマトグラフィーにおける分画試験

食品試料における PBBs 及び PXBs の前処理法を検討するため、シリカゲルカラム、フロリジルカラム、活性炭カラムにおける PBBs 及び PXBs の分画試験を行った。結果を表 11 及び 12 に示す。シリカゲルカラムでは PBBs 及び PXBs の全ての異性体で、回収率は 75%以上であり、良好であった。フロリジルカラムでは PBBs 全ての異性体が 80%以上第 1 画分に溶出していたが、活性炭カラムでは 3, 3', 4, 4'-TeBB、3, 3', 4, 4', 5, 5'-HxBB が第 2 画分に溶出していた。PXBs についてもフロリジルカラムで第 1 画分に 75%以上溶出されていた。これらの結果より PBBs 及び PXBs はフロリジルカラムで PBDEs と同様に第 1 画分（ヘキサン画分）に溶出すると考えられたため、実試料の分析を行う際、PBDEs と同じ方法で前処理を行い、測定溶液を調製することにした。

1-4 実試料の分析

個別食品として分析した 5 種類の魚介類の脂肪含量を表 13 に示す。今回購入した 5 種類の魚介類はすべて天然魚であるが、脂肪含量はタイの 0.42%からサバの 12.2%まで広範囲のものであった。

PBDD/DFs の結果を表 14 に示す。PBDD/DFs の分析では、アナゴから 2, 3, 7, 8-TeBDD と 2, 3, 7, 8-TeBDF が微量に検出され、暫定的に塩素化ダイオキシン類の毒性等価係数(TEF)を用いて計算した TEQ 濃度は 0.015 pgTEQ/g であった。国産のアナゴにおける塩素化ダイオキシ

ン類の報告値（コプラナーPCB は除く）⁵⁾ は約 0.5 pgTEQ/g であることから、それと比較すると、今回の臭素化ダイオキシン類の検出値は非常に低いレベルであった。その他の 4 種類の試料からはいずれの異性体も検出されなかった。

PBDEs の結果を表 15 に示す。PBDEs の分析では、すべてのサンプルから、#49、#47、#100、#99、#154、#153、#209 などの異性体が検出された。平成 16 年の調査結果で、魚介類中 PBDEs 濃度は脂肪含量との相関がみられたが⁶⁾、今回分析した 5 件についても、脂肪含量の高い魚ほど PBDEs 濃度が高い傾向が見られた。また、検出された PBDEs 異性体比を図 14 に示すが、サバ、アジ、アナゴについては 4 臭素化体の#47 の割合が最も高く、キスとタイについては#47 と 10 臭素化体の割合が高かった。この魚種による異性体比の違いについても前回の結果と同様であった。

PBBs 及び PXBs の結果を表 16 に示す。タイ以外の 4 種類の魚から 4、5、6 臭素化体の異性体が検出された。4 種類の魚に共通して高い割合で検出されたのは、2, 2', 5, 5' -TeBB (#52) と 2, 2', 4, 4', 6, 6' -HxBB (#155) であった（図 15）。一方、PXBs は今回の試料からは検出されなかった。

PBBs のこれまで得られている知見として、最近の国内の報告で^{1), 2)}、6 臭素化体を主成分とする市販の難燃剤に最も高い割合で含まれる異性体である 2, 2', 4, 4', 5, 5' -HxBB (#153) が焼却灰や廃棄物、生物試料（肝臓や卵）から主要な異性体として検出されている。今回検出された#155 は、ヨーロッパの報告で、

タラやサバなどの魚介類から高く検出されている例があるが⁷⁾、これは高臭素化体を主成分とした難燃剤の成分が脱臭素化されたものではないかと推察されている。PBBsについては、国内の環境試料や食品、人体試料の調査例はまだ少ないため、汚染源や人体影響についてまだ明らかではない部分が多い。今後、さらに多くの魚介類試料や、その他の食品試料についての調査を行うことによって、汚染実態や汚染源などについての重要な知見を得ることができると考えられる。

2 三地域で採取された魚介食品中のヘキサブロモシクロドデカン汚染実態調査

三地域からの魚介食品でのHBCD汚染調査結果を表17に示した。三地域とは、すなわち、比較的工業地域としての九州、瀬戸内という半閉鎖水域かつ工業地域としての中国・四国、大消費都市及び工場地域としての中部である。ΣHBCDsの中央値は、九州(0.04 ng/g ww, 1.1 ng/g lw) < 中国・四国(0.08 ng/g ww, 7.0 ng/g lw) < 中部(1.2 ng/g ww, 100 ng/g lw)の順に汚染が高くなり、湿重量比で中部/九州では30倍、中部/中国・四国では15倍の汚染レベルの差が、脂肪重量比で中部/九州では91倍、中部/中国・四国では14倍という差があった。各地域で、九州では1例、中国・四国では2例、中部では8例が1 ng/g wwを越えていた。また、そのうちの数例は点汚染源の影響ではないかと思われるような、中央値から外れた汚染濃度を示す試料(中国・四国のマカリなど)があった。今回の試料は魚

種を限定した調査ではなく、摂取する頻度の高い魚種を10~13と広く選択している。一般的に、中央値はおおよそその地域の魚介一般の濃度に近いと考えられる。以上の結果から、海産食品のHBCD汚染が地域によっては、進んでいることが示唆されたため、再度、加工食品1件及び養殖魚介6件を除いた天然生育の魚介類32種38件に限定して比較した(図16)。また、同時に、既に得られているΣPBDEs汚染濃度とも比較した。この場合、ΣHBCDsの中央値は、九州(0.04 ng/g ww, 1.4 ng/g lw) < 中国・四国(0.06 ng/g ww, 11 ng/g lw) < 中部(2.9 ng/g ww, 150 ng/g lw)の順に高くなった。図16に示すように、中央値で中部/九州では73倍、中部/中国・四国では48倍の汚染レベルの差が、脂肪ベースでは中部/九州では107倍、中部/中国・四国では14倍という差があった。一方、ΣPBDEsの中央値は、九州(0.10 ng/g ww) ≦ 又は ≧ 中国・四国(0.11 ng/g ww) < 中部(0.33 ng/g ww)で、3地域間では、中央値で中部/九州では3.3倍、中部/中国・四国では3倍の汚染レベルの差に留まった。これらの結果から、魚介類食品において、ΣPBDEsや我々がすでに報告したTBBPA汚染濃度⁶⁾に比べると、中部のΣHBCDsは、他地域と比べて一段と汚染濃度が大きくなっていることが示唆される。今後はPBDE汚染とともにHBCD汚染の推移についても継続的に注視する必要があると考えられる。

D 結論

1 HRGC/HRMSの条件検討の結果、PBDEs、PBBs、PXBs及びTBBPAについては1種類

のカラム (SLB-5MS) で測定が可能であった。また、高臭素化体における高感度化の検討では、カラムの MS 側を一時的に冷却することによって、DeBDE の高感度検出ができた。魚試料の汚染調査では、アナゴから 4 臭素化ダイオキシンが微量に検出されたが、その他の魚からは PBDD/DFs は検出されなかった。PBDEs ではすべての魚から #49、#47、#100、#99、#154、#153、#209 などの異性体が検出され、PBBs では 4 種類の魚から 4-6 臭素化体の異性体が検出された。PXBs は今回の魚試料からはいずれの異性体も検出されなかった。

2 日本の 3 つの地域 (九州、中国・四国、中部) から集めた魚介食品 45 試料について HBCDs を分析した。ΣHBCDs の中央値は、九州 (0.04 ng/g ww, 1.1 ng/g lw) < 中国・四国 (0.08 ng/g ww, 7.0 ng/g lw) < 中部 (1.2 ng/g ww, 100 ng/g lw) の順に汚染が高くなり、この結果からも、海産食品の HBCD 汚染が地域によっては、進んでいることが示唆された。今後は PBDE 汚染とともに HBCD 汚染の推移についても継続的に注視する必要があると考えられる。

E 参考文献

- 1) Watanabe, K., Senthilkumar, K., Masunaga, S., Takasuga, T., Iseki, N., Morita, M. : Brominated organic contaminants in the liver and egg of the common cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Japan. Environ. Sci. Technol., 38, 4071-4077, 2004.
- 2) Ishikawa, Y., Nose, K., Suzuki, G.,

- Takigami, H., Noma, Y., Sakai, S. : Quantitative analysis of polybrominated biphenyls (PBBs) in Japanese waste samples. Organohalogen Compounds, 68, 1776-1779, 2006.
- 3) Ohta, S., Tokusawa, H., Magota, H., Nakao, T., Aozasa, O., Miyata, H., Ochiai, T., Shimizu, Y. : Contamination levels of polychlorinated / brominated coplanar biphenyls (Co-PXBs) in the market foods and mother's milk of Japan. Organohalogen Compounds, 69, 2018-2021, 2007.
- 4) Murata, S., Nakagawa, R., Ashizuka, Y., Hori, T., Yasutake, D., Tobiishi, K., Sasaki, K. : Brominated flame retardants (HBCD, TBBPA and ΣPBDEs) in market basket food samples of northern Kyushu district in Japan. Organohalogen Compounds. 69, 1985-1988, 2007.
- 5) 厚生労働科学研究「ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究」平成 16 年度 研究報告書
- 6) Ashizuka, Y., Nakagawa, R., Hori, T., Yasutake, D., Tobiishi, K., Sasaki, K. : Determination of brominated flame retardants and brominated dioxins in fish collected from three regions of Japan. Mol. Nutr. Food Res., 52, 273-283, 2008.
- 7) von der Recke, R., Vetter, W. :

GC/ECNI-MSMS residue pattern of hexabrominated biphenyls in marine mammals and fish. *Organohalogen Compounds*, 69, 449-452, 2007.

F 研究発表

1 論文発表

・Ashizuka, Y., Nakagawa, R., Hori, T., Yasutake, D., Tobiishi, K., Sasaki, K.: Determination of brominated flame retardants and brominated dioxins in fish collected from three regions of Japan. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52, 273-283, 2008.

・Murata, S., Nakagawa, R., Ashizuka, Y., Hori, T., Yasutake, D., Tobiishi, K., Sasaki, K.: Brominated flame retardants (HBCD, TBBPA and Σ PBDEs) in market basket food samples of northern Kyushu district in Japan. *Organohalogen Compounds*, 69, 1985-1988, 2007.

・Ashizuka, Y., Nakagawa, R., Murata, S., Yasutake, D., Hori, T., Horie, M., Nishioka, C., Takahashi, T., Tamura, I., Teshirogi, T., Sasaki, K.: Daily intake of brominated dioxins and

polybrominated diphenyl ethers estimated by market basket study. *Organohalogen Compounds*, 69, 2769-2772, 2007.

2 学会・協議会発表

・村田さつき, 芦塚由紀, 中川礼子, 堀就英, 佐々木久美子: 食品中の臭素系難燃剤の分析. 第 44 回全国衛生化学技術協議会年会 (2007.11).

・芦塚由紀, 中川礼子, 村田さつき, 堀就英, 安武大輔, 堀江正一, 西岡千鶴, 高橋哲夫, 田村征男, 手代木年彦, 佐々木久美子: マーケットバスケット方式による臭素化ダイオキシン及び臭素化ジフェニルエーテルの摂取量調査. 第 16 回環境化学討論会 (2007.6).

・村田さつき, 芦塚由紀, 中川礼子, 堀就英, 佐々木久美子: 食品の有機臭素系化合物分析とその汚染濃度. 第 16 回環境化学討論会 (2007.6).

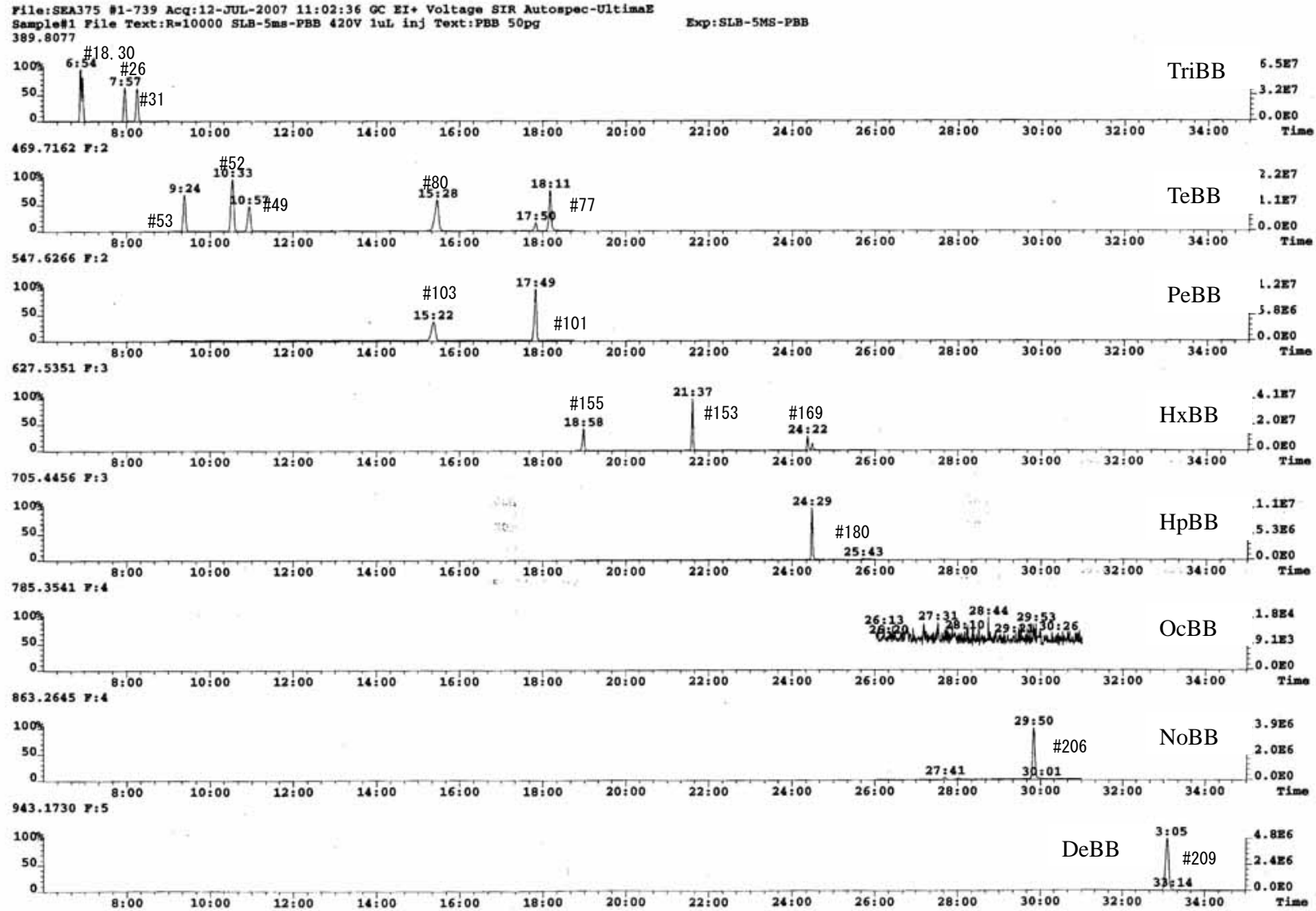


図3 PBBsのクロマトグラム (GCカラム:DB-5, 30 m×0.25 mm, 0.1 μm)