

環境水中のヘキサブロモシクロドデカン分析法の検討

市原真紀子、山本敦史、角谷直哉

Analysis of Hexabromocyclododecane in Water

Makiko ICHIHARA, Atsushi YAMAMOTO and Naoya KAKUTANI

Abstract

Hexabromocyclododecane (HBCD) is the principal brominated flame retardant used to inhibit flammability in combustible products. A method for the determination of HBCD in water has been developed in this study. HBCD in water was adsorbed on a solid extraction disk (Empore Disk C18) and Soxhlet-extraction was performed using hexane. The concentrated eluate was purified by a column cartridge (ENVI-Carb) and reconstituted to 80% methanol. ^{13}C -labeled (α , β , and γ) HBCD and d_{18} - γ -HBCD were used as clean-up spike and syringe spike, respectively. Quantitation was conducted using the isotope dilution method by a liquid chromatograph/tandem mass spectrometer. For recovery studies in river water, the recoveries of α , β , γ , δ , and ϵ -HBCD were within the range of 92.1-105%, with relative standard deviations of 2.8-6.5%.

Key words: hexabromocyclododecane, brominated flame retardant, Soxhlet extraction, analysis method

I 緒言

ヘキサブロモシクロドデカン(HBCD)は臭素系難燃剤のひとつである。その用途は建材用の発泡ポリスチレン樹脂への使用が約8割、繊維製品への使用が約2割とされている[1]。具体的には、前者は住宅用の断熱材として用いられる発泡ポリスチレン保温板など、後者は難燃カーテンやカーシートなどに難燃化を目的とした添加剤として使用されている。同じ臭素系難燃剤であるポリ臭化ジフェニルエーテルの製造・使用が規制されたことから、1990年代から近年までその国内需要量は増加傾向にあり、2010年度における国内の製造・輸入数量は3,019トンであった[2]。また、使用製品中に含有されるHBCDの国内蓄積量は2000年時点で累積約16,000トンと推定されている[3]。

HBCDは難燃剤として優れた性質を持つ一方、環境中での残留性や生物蓄積性を有することから、近年ではヒトや生態系に対する悪影響が懸念されている。2013年には、残留性有機汚染物質(POPs)に関するストックホルム条約の締結国会議においてHBCDの同条

約付属書A(廃絶)への追加が決定された。それを受け、日本においても化学物質審査規制法の第一種特定化学物質への指定が決定するなど、国内外において非常に関心の高い物質である。

国内においては業界団体によるHBCDの自主的な環境排出削減が始められているが[4]、建材や難燃カーテンなどのHBCD使用製品はいずれも長い耐用年数を持つため、今後も含有製品の使用や廃棄に伴い長期間にわたり環境中に排出されると考えられている[3]。また、HBCDは今後はPOPsとしてその製造・使用等の廃絶が進むと考えられるが、POPs条約の付属書においては建材への使用について例外的な除外措置を認めており、今後は使用量の減少が見込まれるものの、その有用さから全面的な廃絶には時間がかかると考えられている。

HBCDは環境中においては大気・底泥・ハウスダスト・野生生物など様々な媒体から検出されている[5-8]。しかし、一方ではHBCDのリスク評価のために用いるフィールドデータの不足が指摘されており[1]、とりわけ淡水域に関する報告は極めて少ないのが現状である[9]。

そこで、我々は水中のHBCD濃度を把握するため、液体クロマトグラフ／タンデム型質量分析計(LC/MS/MS)を用いた環境水中HBCDの異性体別分析法の検討を行った。環境水中のHBCD分析法については、国内では環境省の平成21年度化学物質環境実態調査において分析法が開発されており[10]、その定量下限値は各異性体により4.0~10 ng/Lと報告されている。しかし、我々が大阪市域の河川水を用いて予備検討を行ったところ、その濃度の大半は10 ng/L以下であった。そのため、既報より濃縮倍率を上げることでより低濃度域までの定量を行い、それと同時に最適な前処理方法の検討を行った。確立した分析法により河川水を用いた予備試験を行い、分析法の精度を評価した。

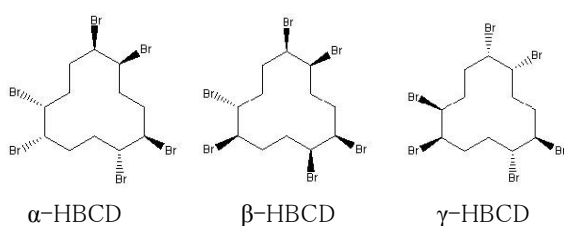


図1 HBCDの主な異性体

II 実験方法

1) 試薬及び器材

α -HBCDと β -HBCDはAccu Standard製を用いた。 γ -HBCD、 $^{13}\text{C}_{12}$ - α -HBCD、 $^{13}\text{C}_{12}$ - β -HBCD、 $^{13}\text{C}_{12}$ - γ -HBCDはCambridge Isotope Laboratories製を用いた。 δ -HBCD、 ϵ -HBCD、 d_{18} - γ -HBCDはWellington Laboratories製を用いた。ジクロロメタン、ヘキサン、メタノールは和光純薬製の残留農薬試験用のものを用い、アセトンは関東化学製の残留農薬試験用のものを用いた。

抽出用の固相ディスクは3M社製のEmpore Disk C18(直径90mm)を用い、精製の固相カートリッジはSupelco製のENVI-Carb 500 mgを用いた。ガラス繊維ろ紙はADVANTEC製のGA100(直径90mm)を用い、ろ過フィルターはナカライテスク製のコスモナイスフィルターW(水系)を用いた。

2) 機器および測定条件

(1) LC/MS/MS

LC/MS/MSはWaters製ACQUITY UPLC/Xevo TQを用いた。

(2) 測定条件

カラムは化学物質評価研究機構製のL-column2 ODS(2.1mm×150mm, 2 μ m)を用いた。移動相は水(A)とメタノール:アセトニトリル(9:1)混合液(B)の2液を

用い、流速を0.4 mL/minとするグラジエント分析を行った。0~15分までA:B=22:78とし、15~17分にかけてA:B=0:100とした後、17~20分までA:B=0:100とし、20~23分にかけてA:B=22:78とした。注入量は10 μ Lとし、イオン化はネガティブイオンモードによるエレクトロスプレーイオン源を用いた。

定量には選択反応モニタリング(SRM)を用いた。モニターイオンの質量数(m/z)は、 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ -HBCDは640.8→80.8、 $^{13}\text{C}_{12}$ - α 、 β 、 γ -HBCDは652.8→80.8、 d_{18} - γ -HBCDは657.9→80.8とした。

3) 本研究で確立した分析方法

水試料5Lにサロゲート($^{13}\text{C}_{12}$ - α 、 β 、 γ -HBCD各25 ng)を添加し、ガラス繊維ろ紙と固相ディスクを重ね通水した。ガラス繊維ろ紙および固相ディスクは、あらかじめメタノール20 mLおよび逆浸透膜ろ過水(RO水)200 mLでコンディショニングしたものを使用した。通水後、試料ビンおよびガラス製ファンネル(ろ過器)は60%メタノール100 mLで洗浄し、合わせて固相ディスクに通水した。固相ディスクおよびろ紙はヘキサン150 mLで3時間ソックスレー抽出を行った後、エバポレーターおよび窒素気流下で約1 mLに濃縮した。この濃縮液を固相カートリッジに負荷し、25%ジクロロメタン/ヘキサン10 mLで溶出した。固相カートリッジはあらかじめジクロロメタン10 mLおよびヘキサン10 mLでコンディショニングしたものを用いた。この溶出液を窒素気流下で乾固直前まで濃縮後、80%メタノール0.5 mLに溶解し、超音波を5分間照射後シリンジスパイク(d_{18} - γ -HBCD 25 ng)を添加し試験液とした。なお、試験液が懸濁している場合はろ過フィルターでろ過操作を行った後分析に供した。これをLC/MS/MSにより測定し、 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ -HBCDについて定量した。定量は内標準による同位体希釈法

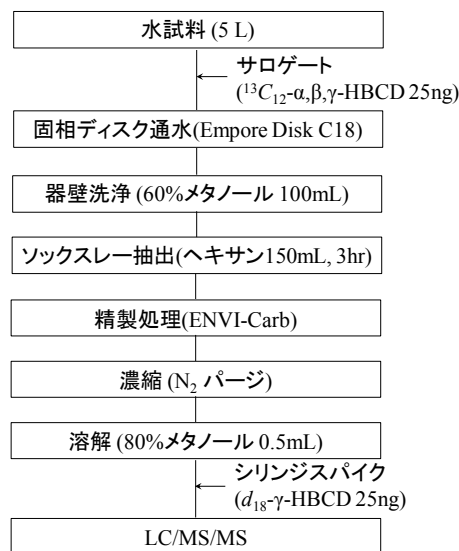


図2 本研究で確立したHBCD分析フロー

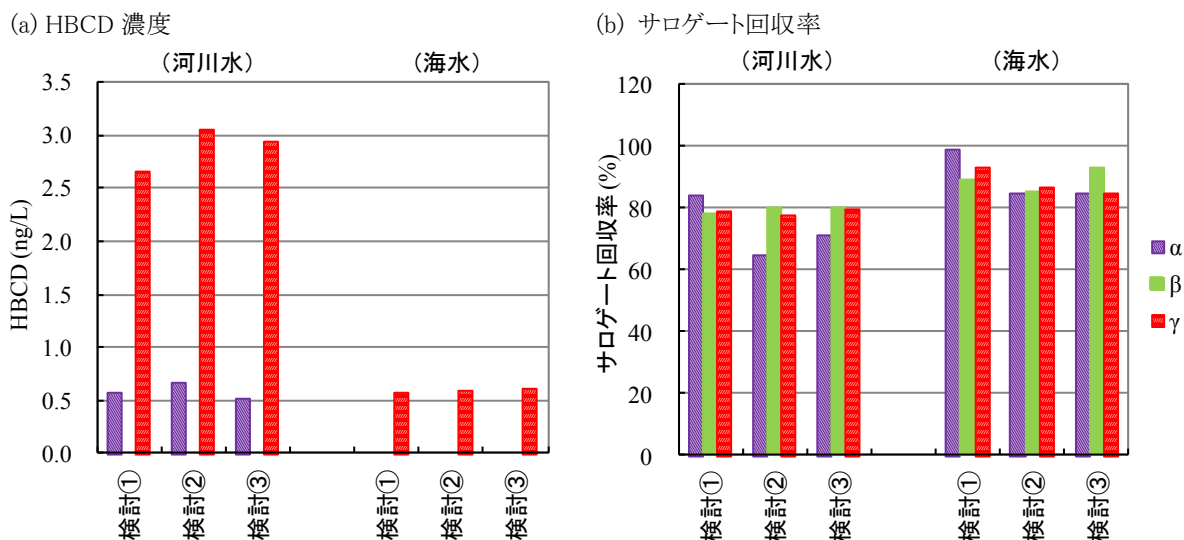


図3 各抽出法による測定結果およびサロゲート回収率 ($n=2$)

を用い、検量線用標準液の濃度範囲は1 ng/mLから200 ng/mLとした。定量下限は標準液のクロマトグラムにおいてSN比が10以上である濃度とし、 α , β , γ , ϵ -HBCDは0.1 ng/L、 δ -HBCDは0.2 ng/Lであった。

Ⅲ 結果および考察

1) 固相ディスクからの抽出方法の検討

水中のHBCD分析法については液液抽出[11]、固相抽出[9]などの報告例があるが、我々は固相抽出について検討を行った。試料量を5Lとしたため、固相は大容量を比較的短時間で通水可能であるディスク型を用いることとし、以降の検討は固相ディスクEmpore Disk C18について行った。

固相ディスクからの抽出方法は、大阪市域の河川水および海水5Lを固相ディスクに通水後、以下の3方法について検討した($n=2$)。

【検討①】ソックスレー抽出(ヘキサン150 mLで3時間抽出)

【検討②】固相ディスク上から溶媒を流して溶出(アセトン20 mLおよびヘキサン20 mLで溶出。溶出液はRO水を加え振とうし、ヘキサン層に転溶後に濃縮)

【検討③】超音波抽出(アセトン50 mLおよびヘキサン50 mLで各10分抽出。抽出液はRO水を加え振とうし、ヘキサン層に転溶後に濃縮)

各抽出法による測定結果およびサロゲート回収率を図3に示す。サロゲート法による定量では、河川水および海水とも各抽出法による結果の差異はほぼ見られなかった(図3(a))。サロゲート回収率は各抽出法を通じて60%以上であったが、なかでも α -HBCDの回収率はソックスレー抽出(検討①)が他と比べ良好であった(図3(b))。また、この抽出操作の後に精製操作を行うため、抽出液は脱水されていることが必要であるが、【検討②】と【検討③】では抽出溶媒としてヘキサンに加えアセト

ンを用いたため抽出液に水分が含まれ、抽出操作に加えて脱水操作が必要であった。それに対し、【検討①】ではソックスレー抽出時にヘキサン層が脱水されていた。なお、含水試料のヘキサンによるソックスレー抽出は一般的ではないが、本法では試料を通水後、洗浄操作として60%メタノール100 mLを固相ディスクとろ紙に通水しているため、固相ディスクとろ紙中の水分は60%メタノールに置換されており、ヘキサンによるソックスレー抽出が可能であった。固相ディスクおよびろ紙中の60%メタノールに含まれる水分は、ソックスレー抽出時にディーンスタークのコックの部分に溜まり、その水分を除去することによりヘキサン抽出液の脱水が可能であった。このように、【検討①】ではソックスレー抽出時にヘキサンが脱水され、以降の脱水操作が不要であったため、固相ディスクからの抽出はソックスレー抽出を用いることとした。

2) ソックスレー抽出時間の検討

ソックスレー抽出では抽出溶媒にトルエンが用いられることが多いが、HBCDは160°C以上において異性体の熱転移による異性化が報告されている[5]。そのため、抽出溶媒はトルエンより沸点の低いヘキサンを用いることとし、抽出時間の検討を行った。

RO水1Lに α , β , γ , δ , ϵ -HBCDを各50 ngおよび $^{13}\text{C}_{12}$ - α , β , γ -HBCDを各25 ng添加し、固相ディスクに通水した。ソックスレー抽出時に1時間毎に抽出液を取り出し、新たにヘキサンを加えて抽出を再開することにより抽出液を分画した。6時間まで1時間毎に分画し($n=3$)、抽出時間の検討を行った。

ソックスレー抽出時間の検討結果を図4に示す。各異性体とも最初の1時間で100%抽出され、1時間以降の分画からはHBCDは検出されなかった。固相ディスクおよびろ紙に捕捉されたHBCDはソックスレー抽出

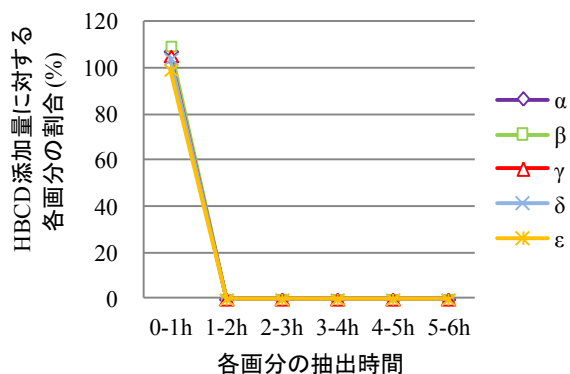


図4 ソックスレー抽出時間の検討結果 (n=3)

により速やかにヘキサン層に抽出されることが分かった。なお、本検討ではRO水にHBCDを添加して検討を行ったが、環境水の場合は水中の懸濁物質(SS)からの抽出も考慮する必要があると考えられる。そこで、河川水を用いて0~3時間、3~6時間と分画してソックスレー抽出したところ、3~6時間の画分にはHBCDはほぼ検出されなかったため、ソックスレー抽出時間は3時間とした。

3) 器壁洗浄に用いる含水メタノール濃度の検討

HBCDはオクタノール/水分配係数が大きいいため、ガラス容器の壁面等に吸着しやすいと考えられている[10]。そこで試料ビンおよびファンネルの器壁洗浄方法として含水メタノールで洗浄し、固相ディスクに通水する方法を検討した。

2)と同様に調製したRO水1Lを固相ディスクに通水した。通水後に1Lビーカー(試料ビンを想定)とファンネルを40, 50, 60, 70, 80, 90%メタノール各100mLで洗浄し、洗浄液を固相ディスクに通水した(n=1)。また、ビーカーとファンネルを洗浄しない検体も準備した(n=1)。通水後の各固相ディスクを分析し、固相ディスク

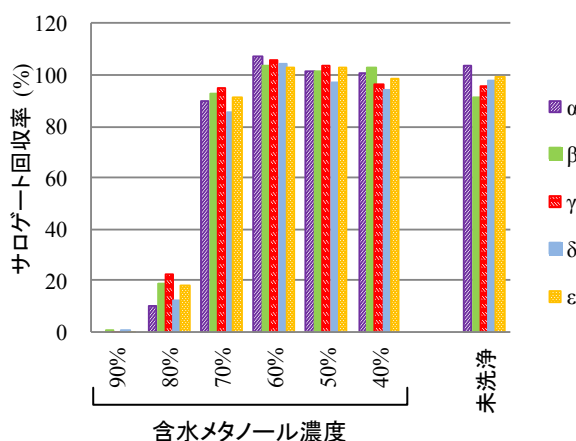


図5 含水メタノール通水による固相ディスクからのHBCDの溶出

にHBCDが保持される含水メタノール濃度について検討した。

含水メタノールを用いて器壁洗浄を行った場合のサロゲート回収率を図5に示す。70~90%メタノールの器壁洗浄液を固相ディスクに通水した場合には回収率の低下が見られ、HBCDの固相ディスクからの溶出が見られた。40~60%メタノールの通水時には回収率はほぼ100%であり、これらの通水後はHBCDが固相ディスクに保持されていることが確認された。また、各含水メタノールで洗浄後の器壁を更にメタノールで洗浄し、器壁にHBCDが残存するかを確認したが、いずれもHBCDは検出されず、HBCDの残留は認められなかった。なお、器壁を未洗浄の場合も回収率はほぼ100%であったが、環境水の場合は器壁に付着したSS等を洗浄する必要があるため、器壁の洗浄は行うこととした。

洗浄には器壁の洗浄効率と固相ディスクからの溶出防止を勘案し、60%メタノールを用いることとした。60%メタノールを固相ディスクに通水することにより、親水性物質の溶出による精製効果も兼ねることができると考えられた。

4) 精製時におけるHBCD各異性体の溶出画分の確認

本方法では試料水を1万倍濃縮するため、夾雑物の影響を強く受けると考えられる。この影響を軽減するため、濃縮液は固相カートリッジ(ENVI-Carb)による精製処理を行った。精製処理を行うに当たり、HBCDの溶出に必要な溶媒量を求めるため、固相カートリッジからの溶出画分の確認試験を行った。固相カートリッジにα, β, γ, δ, ε-HBCD各100ng/mL(ヘキサン溶液)を1mL負荷し、25%ジクロロメタン/ヘキサン溶液15mLで溶出した。溶出液は1mL毎に分画し、各画分について濃縮し、分析を行った(n=3)。

固相カートリッジからのHBCD各異性体の溶出挙動を図6に示す。溶出挙動は各異性体により異なり、全異性体が溶出するのに必要な溶媒量は9mLであった。

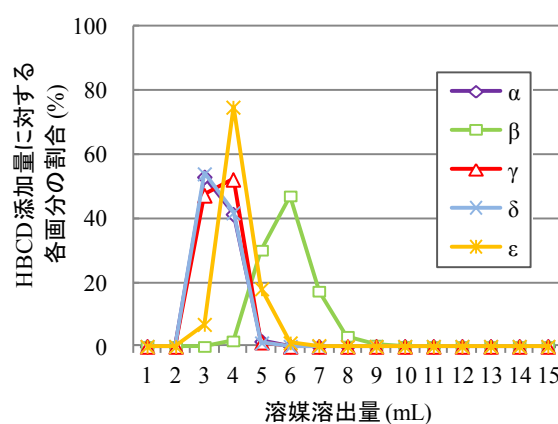


図6 固相カートリッジからのHBCD溶出挙動 (n=3)

表1 添加回収試験に用いた河川水の水質

	pH	濁度	SS mg/L	TOC mg/L	COD mg/L	Cl ⁻ mg/L
大川 (桜宮橋)	7.3	7.0	8.6	3.1	3.4	13

表2 河川水への添加回収試験結果

	α -HBCD ng/L	β -HBCD ng/L	γ -HBCD ng/L	δ -HBCD ng/L	ϵ -HBCD ng/L
無添加 (平均)	0.12	<0.1	0.20	<0.2	<0.1
	5.04	5.37	5.12	4.69	5.44
	4.85	5.18	5.10	4.40	4.89
	5.58	5.18	5.01	4.83	5.58
添加	5.43	5.09	5.20	5.15	4.71
	5.12	5.40	4.92	4.44	5.17
	5.20	5.08	5.49	4.42	5.47
	4.83	5.43	5.43	4.31	5.40
添加 (平均)	5.15	5.25	5.18	4.61	5.24
標準偏差	0.280	0.149	0.210	0.301	0.327
変動係数 (%)	5.4	2.8	4.1	6.5	6.2
回収率 (%)	101	105	99.7	92.1	105

そこで、固相カートリッジからの溶出量は 25%ジクロロメタン/ヘキサン溶液 10mLとした。

各異性体の溶出順は α , γ , δ , ϵ が比較的近接して溶出したのに対し、 β の溶出はそれらと比べ遅かった (図 6)。今回用いた固相カートリッジの充填剤はグラファイトカーボンであるが、既報によると、 α , β , γ について検討を行った結果シリカゲルやフロリジル(ケイ酸マグネシウム)を用いた場合も β の溶出が一番遅くなっていた[12]。この原因として、Mariussenらは β -HBCD は立体配置において臭素原子 6 つのうち 5 つが同じ側にあることが重要だとしており (図 1)、シリカゲルやフロリジルに強く保持されるのは、他の異性体よりファンデルワールス力が大きいからであると考察している[12]。

5) 河川水を用いた添加回収試験

確立した分析方法について、大阪市内を流れる代表的な河川である大川の河川水を用いて添加回収試験を実施した。試験に用いた河川水の水質を表 1 に示す。HBCD の無添加試料 2 検体と、 α , β , γ , δ , ϵ -HBCD を各 25ng 添加した添加試料 7 検体について分析を行った。

添加回収試験結果を表 2 に示す。河川水への HBCD 添加濃度と、添加試料から無添加試料を差し引いた濃度とを比較して回収率を求めた。その結果、回

収率は 92.1~105%、変動係数は 2.8~6.5% であり、良好な結果であることが確認された。

IV まとめ

臭素系難燃剤 HBCD について、環境水中の分析法を確立した。従来の分析法より濃縮倍率を上げることでより低濃度域までの定量を行い、それと同時に最適な前処理方法の検討を行った。河川水への添加回収試験を行ったところ、回収率は 92.1~105%、変動係数は 2.8~6.5% であり、良好な結果が得られた。

謝辞 本研究は、平成 24 年度財団法人琵琶湖・淀川水質保全機構「水質保全研究助成」(「淀川下流域における臭素系難燃剤 HBCD の汚染実態」)を受けて実施した成果の一部である。

参考文献

- 1) Managaki S, Enomoto I, Masunaga S. Sources and distribution of hexabromocyclododecanes (HBCDs) in Japanese river sediment. J. Environ. Monit. 2012; 14: 901-907.
- 2) 経済産業省, 化学物質審査規制法ホームページ、監視化学物質の製造・輸入数量,

- http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/files/information/volume/monitorrev/volume_monitor_h22.xls (2013/07/26)
- 3) 真名垣聡. 臭素系難燃剤 HBCD のライフサイクルを考慮した水環境中への排出経路. 水環境学会誌 2010; 33: 138-141.
 - 4) 経済産業省資料,
<http://www.meti.go.jp/committee/materials2/downloadfiles/g100903b25j.pdf>(2013/07/26)
 - 5) Covaci A, Gerecke AC, Law RJ, Voorspoels S, Kohler M, Heeb NV, et al. Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in the environment and humans: A review. Environ. Sci. Technol. 2006; 40: 3679-3688.
 - 6) Minh NH, Isobe T, Ueno D, Matsumoto K, Mine M, Kajiwara N, et al. Spatial distribution and vertical profile of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecanes in sediment core from Tokyo Bay, Japan. Environmental Pollution 2007; 148: 409-417.
 - 7) Takigami H, Suzuki G, Hirai Y, Sakai S. Brominated flame retardants and other polyhalogenated compounds in indoor air and dust from two houses in Japan. Chemosphere 2009; 76: 270-277.
 - 8) Isobe T, Ochi Y, Ramu K, Yamamoto T, Tajima Y, Yamada TK. Organohalogen contaminants in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from Japan: Present contamination status, body distribution and temporal trends (1978-2003). Marine Pollution Bulletin 2009; 58: 396-401.
 - 9) Harrad S, Abdallah MA, Rose NL, Turner SD, Davidson TA. Current-use brominated flame retardants in water, sediment, and fish from English lakes. Environ. Sci. Technol. 2009; 43: 9077-9083.
 - 10) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課. 化学物質と環境 平成 21 年度化学物質分析法開発調査報告書. 2010; 699-727.
 - 11) Suzuki S, Hasegawa A. Determination of hexabromocyclododecane diastereoisomers and tetrabromobisphenol A in water and sediment by liquid chromatography/mass spectrometry. Analytical Sciences 2006; 22: 469-474.
 - 12) Mariussen E, Haukås M, Arp HPH, Goss KU. Relevance of 1, 2, 5, 6, 9, 10-hexabromocyclododecane diastereomer structure on partitioning properties, column-retention and clean-up procedures. Journal of Chromatography A 2010; 1217: 1441-1446.