

# LC/MS によるテトラブロモビスフェノール A 分析の最適化の検討\*

松井利夫\*\*・藤井幸雄\*\*・鈴木茂\*\*\*

キーワード ①テトラブロモビスフェノール A ②臭素化難燃剤 ③ LC/MS ④河川実態調査

## 要 旨

LC/MS によるテトラブロモビスフェノール A (TBBPA) の分析方法の確立を目的とした。3 種のイオン化法 (ESI, APCI, APPI) のいずれでも分析可能であった。コーン電圧等の最適分析条件を検討したところ、ESI (negative モード) が APCI 法より感度が良かった。移動相 (アセトニトリル系・メタノール系) の違いが感度に強く影響した。河川水中の TBBPA をジクロロメタンで抽出し、アセトニトリルで転溶後、ESI (-) で分析したところ、装置検出下限値は 306 ng/L であり、添加回収率は 96.5% で、12 河川水の濃度 (300 倍濃縮) はすべて不検出 (1 ng/L 未満) であった。

## 1. はじめに

臭素化難燃剤は ABS, エポキシなどの各種樹脂および耐衝撃性ポリスチレン, そのほかにも添加難燃剤として広く利用されることから, これらの化学物質による環境汚染<sup>1~4)</sup>が進み, 生態系への影響も懸念され, 食品やヒトの母乳<sup>5,6)</sup>・血清中など<sup>7)</sup>への蓄積も問題となっている。

今回, 分析対象としたテトラブロモビスフェノール A (以下, TBBPA と略す) は, 日本でもっとも使用量の多い臭素系難燃剤であり, 水に溶けにくく, 生物分解<sup>8)</sup>が進みやすい物質で, 甲状腺ホルモン (T3, T4 系) やがんへの影響も懸念されている<sup>9)</sup>。

ところで, 近年, LC/MS によるビスフェノール A<sup>10~16)</sup> および難燃剤<sup>17~19)</sup> の分析例が多数報告されているが, 最適分析条件の設定が容易でないこ

とやデータベース化が遅れていることなどの短所も指摘されている<sup>20)</sup>。

著者らは, LC/MS による TBBPA の最適化条件の検討を行い, ジクロロメタン抽出操作を組み合わせ, 環境水中の TBBPA 実態調査を行った。

## 2. 対象と方法

### 2.1 対象物質

TBBPA (50 μg/mL, methanol) ならびに<sup>13</sup>C<sub>12</sub>TBBPA (50 μg/mL, methanol) のサロゲートを CIL 社 (Cambridge Isotope Laboratories, Inc.) から購入した。アセトニトリル, メタノール, ジクロロメタン, テトラヒドロフランなどの溶媒は関東化学社製 (LCMS 用もしくは同等品) を用いた。

### 2.2 使用機器と分析条件

LC/MS 機器の LC 部は WATERS 社 HPLC (2695)

\*Study on the Analysis of Tetrabromobisphenol A by LC/MS

\*\*Toshio MATSUI, Yukio FUJII (福井県衛生環境研究センター) Fukui Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science

\*\*\*Shigeru SUZUKI (中部大学応用生物学部環境生物科学科) Chubu University, College of Bioscience and Biotechnology, Department of Environmental Biology

separation module alliance であり、検出部は2996 Photodiode array detector と Micromass ZQ 2000 で構成されている。LC の分離条件の検討および3種のイオン化(ESI法, APCI法, APPI法)における最適条件(コーン電圧など)を求め、定量はSIMで行った。

分析カラムはWATERS製のAtlantis dC<sub>18</sub>(3.5 μm, 2.1×150mm)を用い、LCおよびMSの最適分析条件を表1に示す。「フローインジェクション法」で、溶媒の違いによる感度や最適化イオン化条件の検討を行った。

### 2.3 前処理濃縮操作

抽出溶媒や転溶溶媒は、LCにおける感度や分離に影響するが、本実験ではとくに吟味せず、ジクロロメタン抽出法し、アセトニトリルを転溶溶媒とした。試料水300mlにジクロロメタン140mlを加え、10分間振とうし、下層のジクロロメタンを別の容器にとり、再び、ジクロロメタン50mlを加え、同様に振とう後、先のジクロロメタンと合わせて、硫酸ナトリウムで脱水し、ナス型フラスコを用いて、エバポレーターで約5ml程度に濃縮した。この液を濃縮試験管に移して、窒素気流下で濃縮し、アセトニトリル1mlに転溶後、LC/MSの試験液とした。

### 2.4 装置検出下限, 検量線, 添加回収試験

各イオン化法を用いてTBBPAの検量線を作成し、また、低濃度域(TBBPA: 5 μg/L)の標準液を7回測定し、装置検出下限を求めた。また、超純水にTBBPA標準液(5 μg/L)を1ml添加し、ジクロロメタン抽出後の添加回収率を調べた。

### 2.5 環境水(河川水)中の調査

河川水のTBBPAをESI(negative)法で調査した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 TBBPAのESI, APCI, APPIのマススペクトル分析

ESI, APCI, APPIの3種のイオン化方式(positiveまたはnegativeモード)を比較検討した。フローインジェクション法にて、TBBPA標準液(5 μg/mL: アセトニトリル液)10 μlを注入し、移動相は水・アセトニトリル系もしくは水・メタノール系とした。流速はESIでは0.2ml/min, APCI,

表1 LC/MSの最適条件

LC条件		カラム: Atlantis dC <sub>18</sub> 3 μ(φ2.1×150mm)	
		移動相: 水: メタノール=10:90	
		流速: 0.2~0.5ml/min	
		注入量: 10 μl	
MS条件 (ESI, APCI, APPI)		モニターイオン	
		m/z=543	
		Cone 電圧 40V	
ESI	Desolvation gas.	N <sub>2</sub>	350L/H
	Cone gas	Air	50L/H
	Ion source temp.		100°C
	Multiplier		650
	Capillary voltage		3.5kV(negative)
	Desolvation temp.		350°C
APCI	Corona		7 μA(negative)
	Probe temp.		350°C
APPI	Repella		2 kV

APPIでは0.5ml/minとした。

いずれのイオン化方式でも、negativeモードでm/z542.7[M-H]<sup>-</sup>のスペクトルが観察され、すなわち、フェノール性OHのプロトンに与えた[M-H]<sup>-</sup>が高感度に検出された。また、ピーク質量の±2前後にやや弱い2本のピークが存在したことから、<sup>(79/81)Br</sup>が4つ付加した構造を示す化合物と考えられた。ESI法とAPCI法でのマススペクトルを図1(A, B)に示した。四ノ宮ら<sup>14,15)</sup>は光分解により1個から3個の臭素付加体が生成すると報告し、水・メタノール系のESI(negative)で確認しているが、著者らも弱いながらも、質量464.7[M-H-Br]<sup>-</sup>の3臭素化物のピークを確認したが、これはイオン化時に生成したものと推測した。さらに、m/z478.8のスペクトルも観察したが、構造については解析できなかった。以上の結果は、吉田ら<sup>10)</sup>、長谷川ら<sup>13)</sup>、鈴木<sup>21)</sup>のESI(negative)の報告と一致した。APPI法については、すでにDebrauwerら<sup>22)</sup>の報告があり、[M-H]<sup>-</sup>の生成が認められ、著者らも同様の結果を得た(図2)。

### 3.2 TBBPAのESI, APCIのコーン電圧の最適化

ESI(negative)において、水・アセトニトリル系または水・メタノール系におけるコーン電圧と感度との関係を図3に示した。ソース電圧はデフォルト値の-3.5kVを用いた。いずれの溶媒系でも、40Vのコーン電圧で感度が最大となり、水・

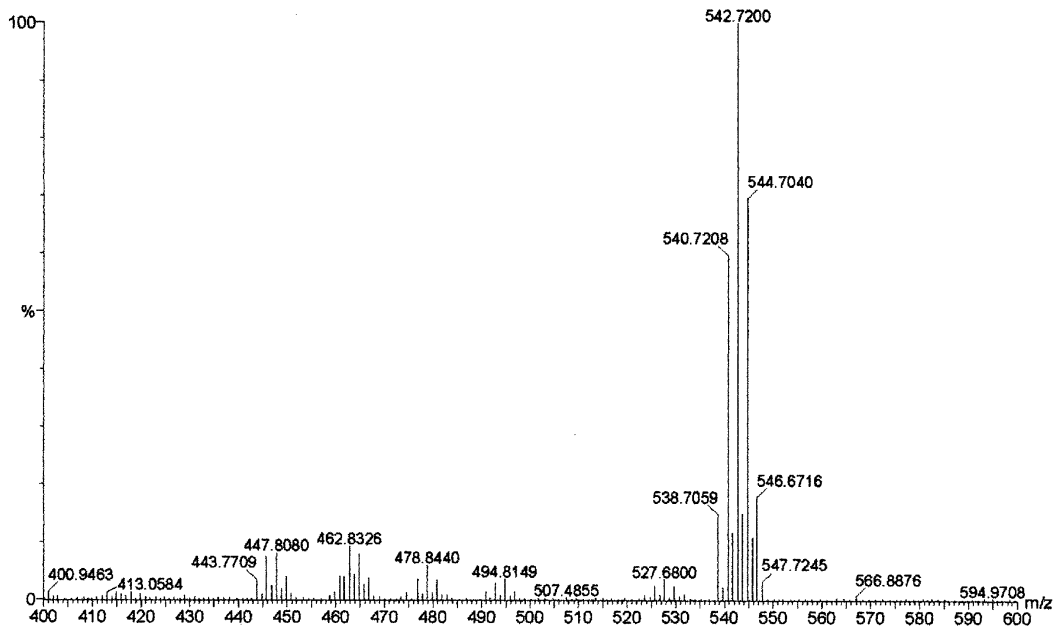


図 1(A) ESI(negative)法による TBBPA のマススペクトル  
 フローインジェクション法, 注入量 $10\mu\text{L}$ ( $5\mu\text{g/mL}$ ) source 電圧(3.5 kV), cone 電圧(40 V)  
 水 : アセトニトリル=10 : 90, 流量 $0.2\text{ml/min}$

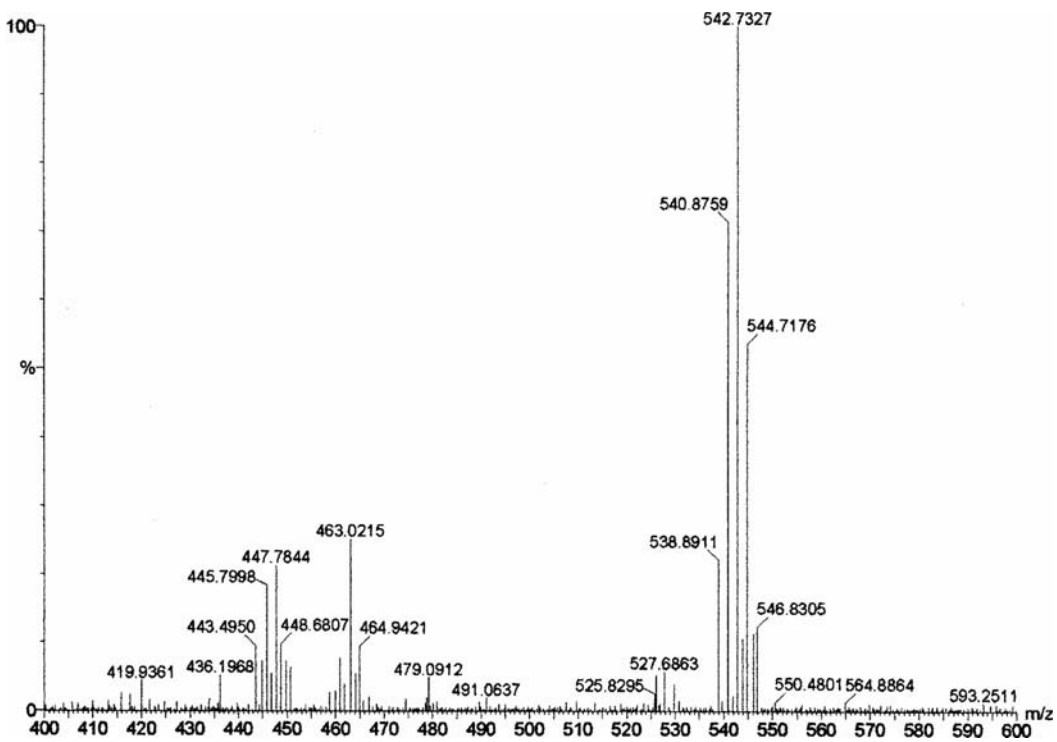


図 1(B) APCI(negative)法による TBBPA のマススペクトル  
 フローインジェクション法, 注入量 $10\mu\text{L}$ ( $5\mu\text{g/mL}$ ) corona 電流( $7\mu\text{A}$ ), cone 電圧(40 V)  
 水 : アセトニトリル=10 : 90, 流量  $0.2\text{ ml/min}$

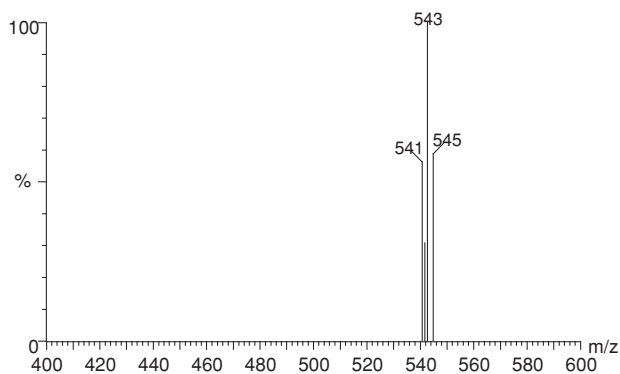


図 2 APPI(negative)法による TBBPA の  
マススペクトル

フローインジェクション法, 注入量  $10 \mu\text{L}$  ( $5 \mu\text{g/mL}$ )  
source 電圧 (3.5 kV), cone 電圧 (40 V)  
水 : アセトニトリル = 10 : 90, 流量  $0.2 \text{ ml/min}$

アセトニトリル系では, アセトニトリル比率が高くなるに伴って, 感度が低下し, 水・メタノール系では, その逆の傾向を示した。このことから, メタノールによる電子親和力の効果がイオン化に強く影響していると推測した。

APCI(negative)におけるコーン電圧と感度との関係を調べ, その結果を図 4 に示した。ESI と同様に  $40 \text{ V}$  で最大感度を示したが, ESI に比べ, 感度は非常に低かった。また,  $100\%$  メタノールではほとんど検出されず, 水・アセトニトリル系が水・メタノール系よりやや感度が高かった。このことから, APCI で生成した  $[\text{M}-\text{H}]^-$  や  $[\text{M}-\text{H}-\text{Br}]^-$  は TBBPA 自身の分解による生成ではなく, TBBPA が水素結合しやすいため, 気化してから

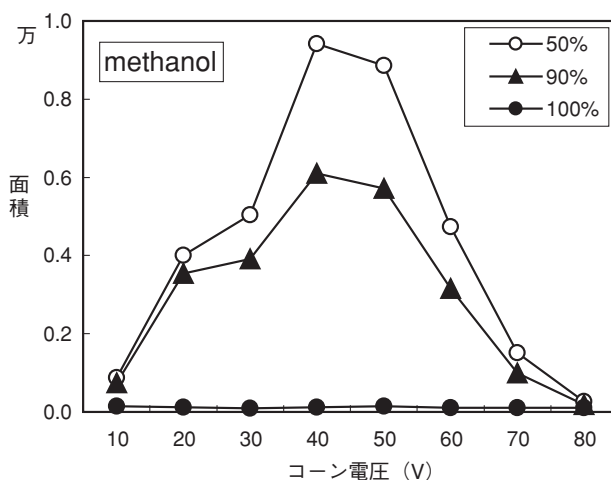
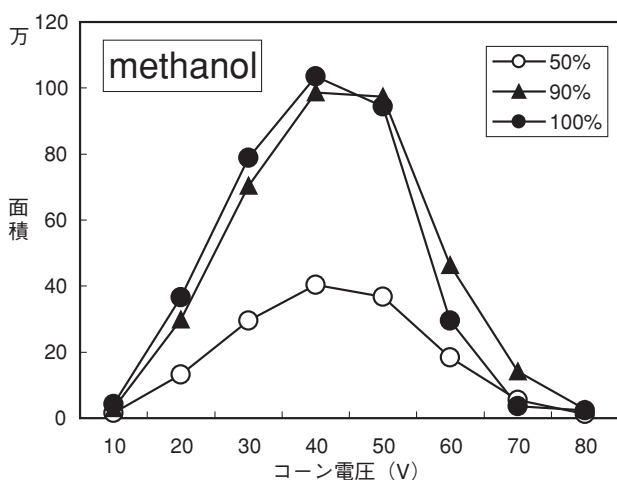
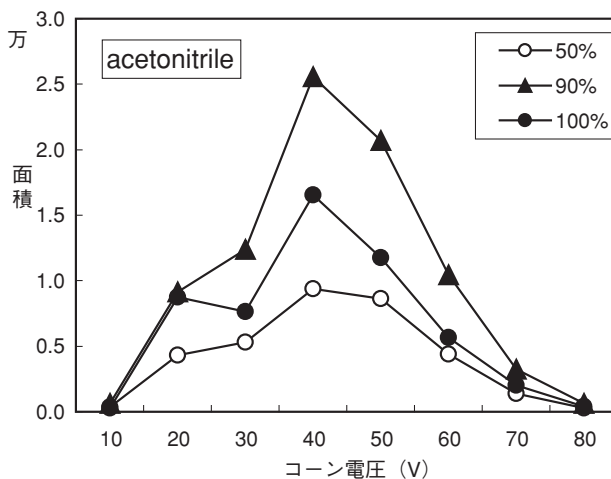
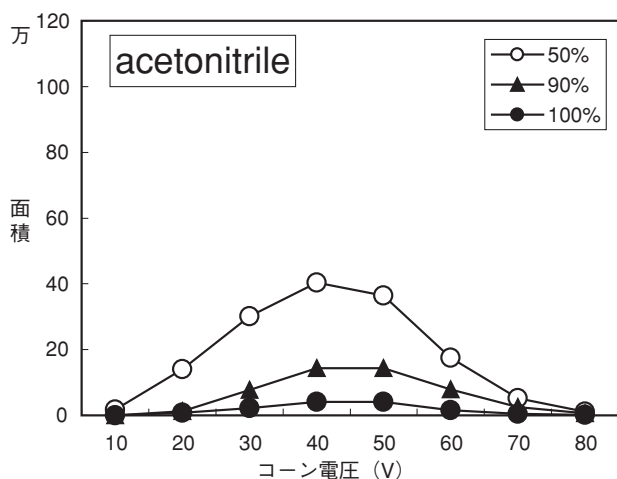


図 3 ESI(negative)法による 2 種の移動相溶媒に  
おけるコーン電圧と感度との関係

フローインジェクション法, TBBPA の注入量  $10 \mu\text{L}$  ( $5 \mu\text{g/mL}$ ) source 電圧 (3.5 kV), cone 電圧 (40 V), 流量  $0.2 \text{ ml/min}$

図 4 APCI(negative)法による 2 種の移動相溶媒に  
おけるコーン電圧と感度との関係

フローインジェクション法, TBBPA の注入量  $10 \mu\text{L}$  ( $5 \mu\text{g/mL}$ ) corona 電流 ( $7 \mu\text{A}$ ), cone 電圧 (40 V), 流量  $0.2 \text{ ml/min}$

イオン化したものと考えられた。

### 3.3 LC用カラムの選択

C<sub>18</sub>系カラム (Atlantis dC<sub>18</sub>) を用い、移動相は水・アセトニトリル系、水・メタノール系とし、溶媒組成比と保持時間との関係を調べ、その結果を図5に示した。おおむね良好な保持時間が得られ、水・メタノール系(10:90)での流速0.5ml/minにおけるTBBPAの保持時間は、1.40分であった。

### 3.4 検量線、装置検出下限、添加回収試験

ESIおよびAPCIによる標準液の検量線を図6に示した。感度はESIが優っており、このことは液滴中でイオン化して蒸発するESIの方が気化してイオン化するAPCIより、イオン化効率が高いことを示していると思われた。装置検出下限(IDL)は306ng/Lであった。

ジクロロメタン抽出の添加回収率は96.3±9.5%、また、濃縮における定量下限は、1.0ng/L(300倍濃縮)であった。また、県内12河川の濃度を調査したところ、すべて不検出(TBBPA: 1ng/L以下)であった。先行研究の吉田らによれば、河川水400倍濃縮で2.8ng/Lの検出下限を報告し、野尻ら<sup>11)</sup>はGC/MSによる河川調査(不検出: 0.5ng/L以下)から一部の河川で4.4~8.0ng/Lの範囲で検出されたと報告した。

ところで、TBBPAやポリ臭素化ジフェニルエーテル(PBDEs)は環境中でメチル化され、ジメチルテトラプロモビスフェノールA<sup>23,24)</sup>(以下Dimethyl TBBPAと略す)およびMethoxy-PBDEs<sup>25)</sup>に変換されて脂溶性が増すことにより、生物濃縮が起りやすくなり、生態系への影響が懸念される。そこで、LC/MSによるDimethyl TBBPAの分析手法の検討を行ったところ、TBBPAの1000分の1程度の感度であり、LCMS分析は不適當であることがわかった。

## 4. ま と め

LC/MSによるTBBPAの分析手法の検討から、以下のことが分かった。

- ① ESI, APCI, APPIのいずれのイオン化法でもnegativeモードで感度があり、ESIがAPCIより高感度であった。
- ② TBBPAは、ESI, APCIのいずれのイオン化

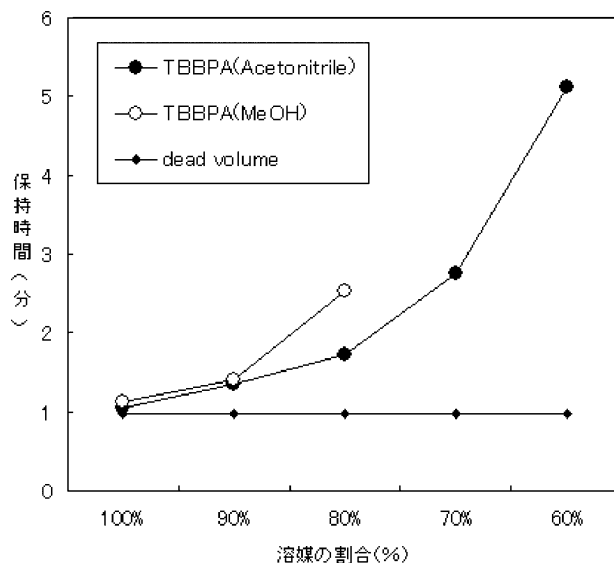


図5 Atlantis dC<sub>18</sub> カラムの移動相溶媒割合と保持時間との関係

溶媒: アセトニトリル, 流量0.5ml/min, ESI(negative)法

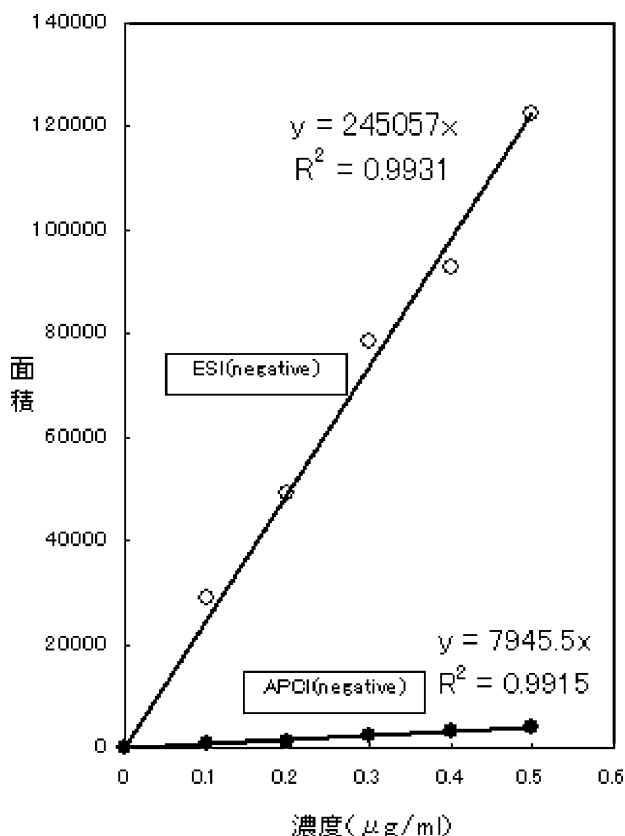


図6 TBBPAの検量線(ESI, APCI)

注入量: 10μL

移動相: アセトニトリル 90%, 流量 0.5 ml/min

- でも、[M-H]<sup>-</sup>がターゲットイオンであり、Brが1個脱落したイオンも検出された。
- ③ 移動相の種類やその比率の影響を強く受け、

溶媒の電子親和力が感度に影響していることが明らかになった。

## 5. 謝 辞

本研究は、平成17～19年度電源立地特別交付金(化学物質対策)による研究事業の一環として、実施した。

### —参考文献—

- Osako M., Kim Y. J., Sakai S.: Leaching of brominated flame retardants in leachate from landfills in Japan, *Chemosphere*, **57**, 1571-1579, 2004
- Sjodin A., Carlsson H., Thuresson K., et al.: Flame retardants in indoor air at an electronics recycling plant and at other work environments, *Environ. Sci. Tech.*, **35**, 448-454, 2001
- Morris S., Allchin C.R., et al.: Distribution and fate of HBCD and TBBPA brominated flame retardants in north sea estuaries and aquatic food webs. *Environ. Sci. Tech.*, **38**, 5497-5504, 2004
- 崔宰源, 森田昌敏: 臭素化難燃剤による環境汚染—近年の傾向, *環境化学*, **11**, 773-783, 2001
- 阿久津和彦, 堀伸二郎: 難燃剤ポリ臭素化ジフェニルエーテル(PBDEs)による食品・母乳汚染, *食衛誌*, **45**(4), 175-183, 2004
- Noren K., Meironyte D.: Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20-30 years, *Chemosphere*, **40**, 1111-1123, 2000
- Choi J. W., Fujimaki S., Kitamura K., Hashimoto S. et al.: Polybrominated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and diphenyl ethers in Japanese human adipose tissue. *Environ. Sci. Tech.*, **37**, 817-821, 2003
- Rone Z., Abeliovich A.: Anaerobic-Aerobic process for microbial degradation of tetrabromobisphenol A, *Applied and environmental microbiology*, **66**(6), 2372-2377, 2000
- Po D.: Toxic effects of brominated flame retardants in man and in wildlife. *Environ., Int.*, **29**(6), 841-853, 2003
- 吉田寧子, 村上雅志: LC/MSを用いた臭素系難燃剤テトラブロモビスフェノールA(TBBPA)の定量方法の検討, 第一回環境分析研究懇談会バーチャルワークショップ
- 野尻喜好, 茂木守, 細野繁雄, 杉崎三男: 河川環境中の臭素化ビスフェノールAの測定, 第15回環境化学討論会要旨集, 446-447, 2006
- 近藤秀治: LC/MSによる化学物質分析方法の基礎的検討, 北海道環境科学研究センター所報, **28**, 118-120, 2001
- 長谷川敦子, 鈴木茂: 液体クロマトグラフィー/質量分析による水質試料中テトラブロモビスフェノールAの分析, *環境化学*, **14**, 73-79, 2004
- 四ノ宮美保, 大浦健: 環境資料中における臭素化ビスフェノールAの分析, 第14回環境化学討論会要旨集, 552-553, 2005
- 四ノ宮美保, 大浦健: 環境資料中における臭素化ビスフェノールAの分析, 第15回環境化学討論会要旨集, 444-445, 2006
- Tollback J., Crescenti C., Dyremark E.: Determination of the flame retardant tetrabromobisphenol A in air sample by liquid chromatography-mass spectrometry, *J of chromatography A*, **1104**, 106-112, 2006
- LC/MS研究会: LC/MSの環境科学分析への応用, 全国環境研究会誌, **23**, 2-39, 2003
- LC/MSを用いた化学物質分析法開発マニュアル, 環境庁環境保健部環境安全課, 平成12年4月
- 化学物質環境実態調査におけるLC/MSを用いた化学物質の分析法とその解説, 環境省環境保健部環境安全課, 平成18年3月
- 森脇洋, 上堀美知子, 古武家義成, 鈴木茂, 花田善文: LC/MSデータベースの構築について, *環境と測定技術*, **30**, 60-65, 2003
- 鈴木茂: 環境分析におけるLC/MSと新技術, 全国環境研究会誌, **28**(4), 33-39, 2003
- Debrauwer L., Riu A., Jouhabri M., Rathahao E., et al.: Probing new approaches using atmospheric pressure photo ionization for the analysis of brominated flame retardants and their related degradation products by liquid chromatography-mass spectrometry, *J of Chromatography A*, **1082**, 98-109, 2005
- Watanabe I., Kashimoto T.: The flame retardant tetrabromobisphenol A and its metabolite found in river and marine sediments in Japan, *Chemosphere*, **12**, 1533-1539, 1983
- Sellstrom U., Janson B.: Analysis of tetrabromobisphenol A in a product and environmental samples, *Chemosphere*, **31**, 3085-3092, 1995
- Haglund P., Zook D. B., Buser H. R., Hu J.: Identification and quantification of polybrominated diphenyl ethers and methoxy-polybrominated diphenyl ethers in Baltic Biata, *Environ. Sci. Tech.*, **31**, 3281-3287, 1997