

Agilent 7000 トリプル四重極 GC/MS を 用いた土壌中のポリ臭化ジフェニルエーテル および新規臭素系難燃剤の分析

著者

Thomas J. McGrath,
Paul D. Morrison, and
Bradley O. Clarke
RMIT University,
Melbourne, VIC, Australia

Tarun Anumol and
Philip L. Wylie
Agilent Technologies, Inc.
Wilmington, DE, USA

Joerg Reiner
Agilent Technologies, Inc.
Waldbronn, Germany

概要

ポリ臭化ジフェニルエーテル (PBDEs) は、環境中での残留性、生物蓄積の可能性、および毒性により、国連の残留性有機汚染物質 (UN POPs) に指定されている難燃剤です。代替品である新規臭素系難燃剤 (NBFRs) も同様に健康を害し、環境中での分布も類似しており、重大な影響を及ぼす汚染物質と認識されるようになっていきます。このアプリケーションノートでは、選択的高圧液体抽出法 (S-PLE) と Agilent 7000C トリプル四重極 GC/MS を用いて、環境土壌サンプル中の 8 つの PBDEs と 6 つの NBFRs を同時定量する、高感度で信頼性の高いメソッドの開発とバリデーションについて説明します。メソッドを環境土壌サンプルに適用し、低濃度およびサブng/g の濃度まで PBDEs と NBFRs を同定しました。

はじめに

さまざまな臭素系難燃剤 (BFRs) が、プラスチック、電子機器、発泡体や繊維に含まれています。BFR として最も一般的に使用される PBDEs は、内分泌かく乱作用や発達神経毒性^{1,2} など、ヒトや動物に有害な作用を引き起こします。環境やヒトの健康に有害な作用を及ぼすことから、特定の PBDEs は UN POPs³ に分類され、法律での禁止や、北米、欧州、オーストラリアなどの企業による自主回収が行われています。一方、PBDEs の制限や規制により、NBFRs の製造や使用が増えてきましたが、NBFRs には、禁止された PBDEs と同じ化学的特性 (毒性、生物蓄積の可能性、環境中での残留性など) を持つものもあります。

質量分析と組み合わせたガスクロマトグラフィー (GC/MS) が BFRs の定量に最もよく使用される機器です。電子捕獲負イオン化 (ECNI) を用いた選択イオンモニタリング (SIM) は BFR 分析で優れた感度を示しますが、PBDE と NBFR を合わせて測定した場合の複雑なクロマトグラフィーの溶出プロファイルには、選択性が向上した電子イオン化モードでのトリプル四重極質量分析計 (GC/ (EI) -MS/MS) が有効です。

固体マトリックスから有機ハロゲンを分離する従来のメソッドでは一般的に、ソックスレー抽出、固相抽出 (SPE)、超音波抽出の後に、さまざまな吸着剤を用いたクロマトグラフィー精製が行われてきました⁴。これらのプロセスにより、土壌からさまざまな PBDEs や NBFRs 混合物を抽出できました。今回、さまざまなマトリックスからの PBDEs や他の難燃剤の抽出に S-PLE を用いました。

この研究では、S-PLE と GC/ (EI) -MS/MS を用いて環境土壌サンプル中の PBDEs と NBFRs を同時定量する、高速で堅牢、再現性の高い、高感度なメソッドを開発しました。

実験方法

試薬および標準物質

非標識化合物の標準物質はすべて、AccuStandard, Inc. (ニューヘイブン、コネチカット州、米国) から購入し、炭素を標識したサロゲート標準物質はすべて、Wellington Labs (ゲルフ、オンタリオ州、カナダ) から入手しました。抽出や標準物質の調製に溶媒として使用した農薬グレードのイソオクタン、トルエン、n-ヘキサンおよびジクロロメタンは、Honeywell Burdick and Jackson (マスキーゴン、ミシガン州、米国) から入手しました。

サンプル前処理

3 g ずつ添加した土壌サンプルと実際の環境土壌サンプルについて、n-ヘキサン：ジクロロメタン (50:50、v:v) を用いて 100 °C、1,500 psi で高圧液体抽出しました。サンプルクリーンアップは、2 g の Na₂SO₄ および 1 g の Hydromatrix に分散させた土壌サンプルについて、Florisil、酸性シリカ、Na₂SO₄、および活性銅粉を用いて実施しました。抽出物は室温で緩やかな窒素流下で濃縮乾固し、250 µL のガラスインサート中で、100 µL のイソオクタン：トルエン (80:20、v:v) に再溶解しました。抽出プロセスの詳細は、参考文献を参照してください⁵。

GC/MS 分析

7000C シリーズガスクロマトグラフ/トリプル四重極質量分析計を GC/MS 分析に用いました*。表 1 に GC 条件を、表 2 にイオン源と MS 条件の詳細を示します。

ターゲット化合物は、Agilent MassHunter Quantitative Analysis ソフトウェアを用いて、リテンションタイムと 2 つのイオントランジションによって特定しました。それぞれの化合物について、1 次トランジションを定量に、2 次トランジションを定性の確認に用います。サンプル中の分析対象物を確実に同定するために、以下の 3 つの基準を用いました。

- S/N 比が 3:1 超
- リテンションタイムが分析標準物質のリテンションタイムから ±5 % 以内
- イオントランジションの定量と定性のアバンダンス比が、標準物質で測定した比の ±20 % 以内

* 発行時点で、7000D MS/MS は 7000C MS/MS と同等であり、この分析においては同等またはそれ以上の性能を発揮します。

表 3 に最適化した取り込みパラメータを示します。

標識化した PBDE 標準物質を内部標準の定量のサロゲートとして用いました。非標識の PBDE 同族体は、相当する同位体を用いて定量し、NBFRs は GC で最も近いリテンションタイムを示す標識化した PBDE 同族体を割り当てました。各サロゲート内部標準物質 5 ng (¹³C-BDE-209 は 100 ng) を各土壌サンプルに添加後、抽出しました。GC/MS/MS 分析の直前に、回収率測定の内標準物質として、5 ng の BDE-37 と BDE-77 を最終抽出液に添加し、US EPA メソッド1614⁶ の手順に従ってサロゲート標準物質の回収率を求めました。対応するサンプル添加濃度で、すべてのターゲット化合物と各内部標準物質を含む 5 ポイント検量線を、イソオクタン/トルエン (80:20, v:v) で作成し、定量に用いました。

表 1. Agilent 7890 GC 条件

パラメータ	設定値
分析カラム	Agilent DB5-ms、180 μm × 15 m、0.18 μm (部品番号 121-5522UI)
サンプル注入モード	マルチモード注入口 (MMI) を用いた 2 μL パルスドスプリットレス
注入ロライナ	Agilent 200 μL ディンプル、シングルテーパライナ (部品番号 5190-2296)
注入口温度プログラム	100 °C (0.2 分間) 900 °C/分で 330 °C まで昇温
注入パルス圧力	50 psi (1.5 分間)
スプリットベントへのパージ流量	50 mL/分 (2.5 分間)
キャリアガス流量	ヘリウム
キャリアガス流量	1.8 mL/分 (8.25 分間)、100 mL/分〜4 mL/分
オープン温度プログラム	80 °C (1 分間)、37 °C/分 で 230 °C まで昇温、 30 °C/分 で 325 °C まで昇温 (5.3 分間)
分析時間	13.5 分

表 2. EI イオン源パラメータおよび MS 条件

パラメータ	設定値
質量分析計	Agilent 7000C、電子衝撃イオン化イオン源付き、マルチプルリアクションモニタリングモード (MRM) で測定
イオン化モード	ポジティブ
イオン源温度	280 °C
四重極 1 および 2 の温度	150 °C
トランスファーライン温度	325 °C

表 3. GC/ (EI) -MS/MS 取り込みパラメータ

化合物	略語	リテンション タイム (分)	プリカーサ イオン (m/z)	プロダクト イオン (m/z)	ドウェル (ミリ秒)	CE (eV)	EM ゲイン (V)
2,4,4'-トリブロモジフェニルエーテル	BDE-28	5.79	405.8	246.0	10	20	10
2,4,4'-トリブロモジフェニルエーテル	BDE-28	5.79	408.0	248.1	10	5	10
2,4,4'-トリブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-28 (SS)	5.79	417.8	258.0	10	40	10
2,4,4'-トリブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-28 (SS)	5.79	419.8	260.1	10	60	10
ペンタブロモトルエン	PBT	5.82	485.5	247.0	10	20	10
ペンタブロモトルエン	PBT	5.82	485.5	326.0	10	20	10
3,4,4'-トリブロモジフェニルエーテル	BDE-37 (RS)	5.93	405.8	246.0	10	20	10
3,4,4'-トリブロモジフェニルエーテル	BDE-37 (RS)	5.93	408.0	248.1	10	5	10
ペンタブロモエチルベンゼン	PBEB	5.94	499.7	484.6	10	20	10
ペンタブロモエチルベンゼン	PBEB	5.94	499.7	420.5	10	20	10
ヘキサブロモベンゼン	HBB	6.32	552.0	391.8	15	25	10
ヘキサブロモベンゼン	HBB	6.32	549.5	389.7	10	25	10
2,2',4,4'-テトラブロモジフェニルエーテル	BDE-47	6.43	486.0	326.0	10	45	10
2,2',4,4'-テトラブロモジフェニルエーテル	BDE-47	6.43	326.0	138.0	10	20	10
2,2',4,4'-テトラブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-47 (SS)	6.43	497.7	338.0	12	25	10
2,2',4,4'-テトラブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-47 (SS)	6.43	495.7	336.1	12	45	10
3,3',4,4'-テトラブロモジフェニルエーテル	BDE-77 (RS)	6.73	486.0	326.0	10	45	10
3,3',4,4'-テトラブロモジフェニルエーテル	BDE-77 (RS)	6.73	326.0	138.0	10	20	10

化合物	略語	リテンション タイム (分)	プリカーサ イオン (m/z)	プロダクト イオン (m/z)	ドウェル (ミリ秒)	CE (eV)	EM ゲイン (V)
2,2',4,4',6-ペンタブロモジフェニルエーテル	BDE-100	6.95	563.6	403.7	10	35	10
2,2',4,4',6-ペンタブロモジフェニルエーテル	BDE-100	6.95	565.6	405.6	16	35	10
2,2',4,4',6-ペンタブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-100 (SS)	6.95	577.7	417.8	10	35	10
2,2',4,4',6-ペンタブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-100 (SS)	6.95	417.3	309.0	10	55	10
2,3,4,5 - テトラブロモ安息香酸 2 - エチルヘキシル	EH-TBB	7.13	420.5	233.0	10	30	10
2,3,4,5 - テトラブロモ安息香酸 2 - エチルヘキシル	EH-TBB	7.13	420.5	311.5	10	30	10
2,2',4,4',5-ペンタブロモジフェニルエーテル	BDE-99	7.03	563.6	403.7	10	20	10
2,2',4,4',5-ペンタブロモジフェニルエーテル	BDE-99	7.13	565.6	405.6	10	20	10
2,2',4,4',5-ペンタブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-99 (SS)	7.13	577.7	417.8	10	40	10
2,2',4,4',5-ペンタブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-99 (SS)	7.13	417.3	309.0	13	55	10
2,2',4,4',5,6'-ヘキサブロモジフェニルエーテル	BDE-154	7.55	643.6	483.8	10	25	10
2,2',4,4',5,6'-ヘキサブロモジフェニルエーテル	BDE-154	7.55	483.7	374.9	14	25	10
2,2',4,4',5,6'-ヘキサブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-154 (SS)	7.55	655.6	495.8	10	40	10
2,2',4,4',5,6'-ヘキサブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-154 (SS)	7.55	495.7	386.9	10	45	10
2,2',4,4',5,5'-ヘキサブロモジフェニルエーテル	BDE-153	7.76	643.6	483.8	14	40	10
2,2',4,4',5,5'-ヘキサブロモジフェニルエーテル	BDE-153	7.76	483.7	374.9	10	40	10
2,2',4,4',5,5'-ヘキサブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-153 (SS)	7.76	655.6	495.8	10	25	10
2,2',4,4',5,5'-ヘキサブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-153 (SS)	7.76	495.7	386.9	10	25	10
2,2',3,4,4',5',6-ヘプタブロモジフェニルエーテル	BDE-183	8.28	561.7	454.9	21	20	10
2,2',3,4,4',5',6-ヘプタブロモジフェニルエーテル	BDE-183	8.28	721.6	561.8	10	25	10
2,2',3,4,4',5',6-ヘプタブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-183 (SS)	8.28	733.4	573.8	10	25	10
2,2',3,4,4',5',6-ヘプタブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-183 (SS)	8.28	733.4	575.6	10	40	10
ビス (2,4,6-トリブロモフェノキシ) エタン	BTBPE	8.43	356.5	118.0	16	40	10
ビス (2,4,6-トリブロモフェノキシ) エタン	BTBPE	8.43	356.5	90.0	16	60	10
テトラブロモフタル酸ビス (2-エチルヘキシル)	BEH-TEBP	8.52	464.5	220.7	10	30	10
テトラブロモフタル酸ビス (2-エチルヘキシル)	BEH-TEBP	8.52	464.5	380.9	10	55	10
デカブロモジフェニルエーテル	BDE-209	11.62	799.4	639.5	67	55	100
デカブロモジフェニルエーテル	BDE-209	11.62	639.5	530.7	52	55	100
デカブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-209 (SS)	11.62	811.8	651.4	61	55	100
デカブロモジフェニル [¹³ C ₁₂] エーテル	¹³ C-BDE-209 (SS)	11.62	651.5	543.6	57	55	100
デカブロモジフェニルエタン	DBDPE	13.04	484.5	324.5	113	25	100
デカブロモジフェニルエタン	DBDPE	13.04	484.5	403.5	136	55	100

SS = サロゲート内部標準物質、RS = 回収率測定の内外部標準物質、CE = コリジョンエネルギー、EM = エレクトロンマルチプライア。

1 次イオンランジションは定量用、2 次イオンランジションは定性の確認用

結果と考察

クロマトグラフィー性能

分析対象物は DB5-ms カラムを用いて分析時間 13.5 分で分離できました。低濃度で添加した土壌抽出物から、優れたピーク形状が得られたことより、干渉するマトリックスを効率的に除去し、ターゲット化合物を完全に抽出で

きることが示されました。図 1 に、各化合物をそれぞれの定量下限 (LOQ) となる濃度で添加した土壌の MRM クロマトグラムを示します。BEH-TEBP は酸性のサンプルクリーンアップ手順で不安定になるため、添加回収試験における回収率は低い結果になりました。

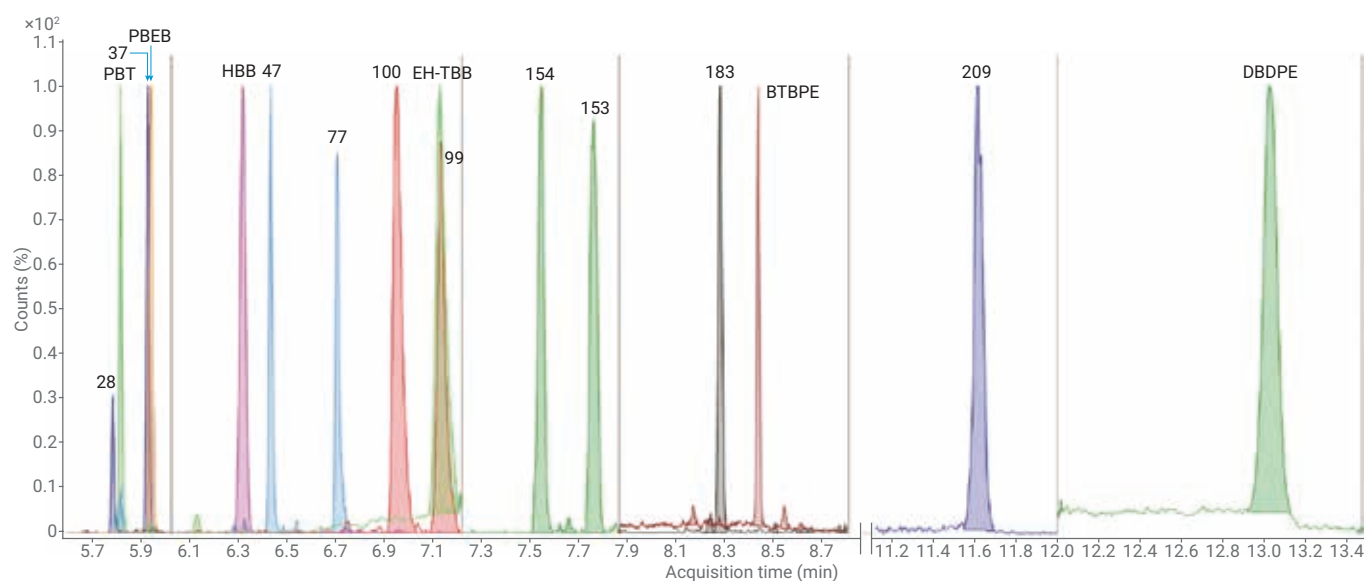


図 1. 各化合物の LOQ となる濃度で添加した土壌抽出物のクロマトグラム。0.17 ng/g (BDE-28、-47、-99、-100、-153、-154、-183、PBT、PBEB、HBB)、13 ng/g (EH-TBB)、3.3 ng/g (BTBPE)、25 ng/g (BDE-209)、66 ng/g (DBDPE)。MRM クロマトグラムは各リテンションタイム枠に対して正規化しました。ピークの上の番号は、表 3 に示した PBDE 同族体を示します。

分析性能

すべての分析対象物について、直線回帰は $R^2 > 0.99$ で 5 ポイント検量線に適合しました。LOQ は、ほとんどの化合物で 0.1 ng/g (乾燥重量) 未満でした。BDE-209 および DBDPE では LOQ が高くなりましたが、これらは高沸点化合物のため、一般的に、注入と GC カラムからの溶出時に熱に不安定になるからです。3 g のクリーン土壌を用いて添加回収試験を繰り返した結果、2 つの添加濃度で優れた真度と精度が得られました。

実際の土壌サンプルの分析

廃電子機器リサイクル工場から採取した土壌サンプルを、最適化した S-PLE と GC/MS メソッドを用いて分析した結果、PBDEs と NBFRs の両方が含まれていることが判明しました (図 2)。それぞれの PBDEs は、0.11 ng/g (乾燥重量) (BDE-28) から 1,900 ng/g (乾燥重量) (BDE-209) の濃度範囲で、HBB、BTBPE、および DBDPE はそれぞれ、0.56、20、および 380 ng/g (乾燥重量) で存在しました。BEH-TEBP も分析で同定されましたが、抽出効率が低く、定量できませんでした。図 2 で示した MRM クロマトグラムは高

い S/N 比で、良好なピーク形状を示しています。これらの結果は、S-PLE メソッドの抽出効率と 7000C GC/MS の感度が優れていることを示しています。

表 4. 分析性能と繰返し実施した土壌添加回収試験の回収率

化合物	低濃度での添加 (n = 5)		高濃度での添加 (n = 3)		直線性 (R^2)	LOQ (ng/g 土壌)
	回収率 (%)	RSD	回収率 (%)	RSD		
BDE-28	98	2	98	2	0.9999	0.03
BDE-47	98	2	99	3	0.9999	0.04
BDE-99	100	5	101	<1	0.9999	0.04
BDE-100	97	1	100	1	0.9999	0.06
BDE-153	98	1	96	7	0.9998	0.03
BDE-154	93	2	92	2	0.9999	0.03
BDE-183	68	3	104	47	0.9999	0.05
BDE-209	101	19	91	1	0.9980	16
PBT	93	2	86	2	0.9998	0.03
PBEB	92	2	88	2	0.9999	0.03
HBB	95	5	106	3	0.9976	0.03
EH-TBB	88	7	91	16	0.9934	1.8
BTBPE	110	9	108	2	0.9959	0.49
BEH-TEBP	—	—	—	—	0.9908	—
DBDPE	—	—	103	2	0.9915	45

土壌 (3 g) に低濃度および高濃度の添加量: 5 および 20 ng (BDE-28、-47、-99、-100、-153、-154、-183、PBT、PBEB、HBB)、10 および 40 ng (EH-TBB、BTBPE)、25 および 100 ng (BEH-TEBP)、50 および 200 ng (BDE-209、DBDPE)

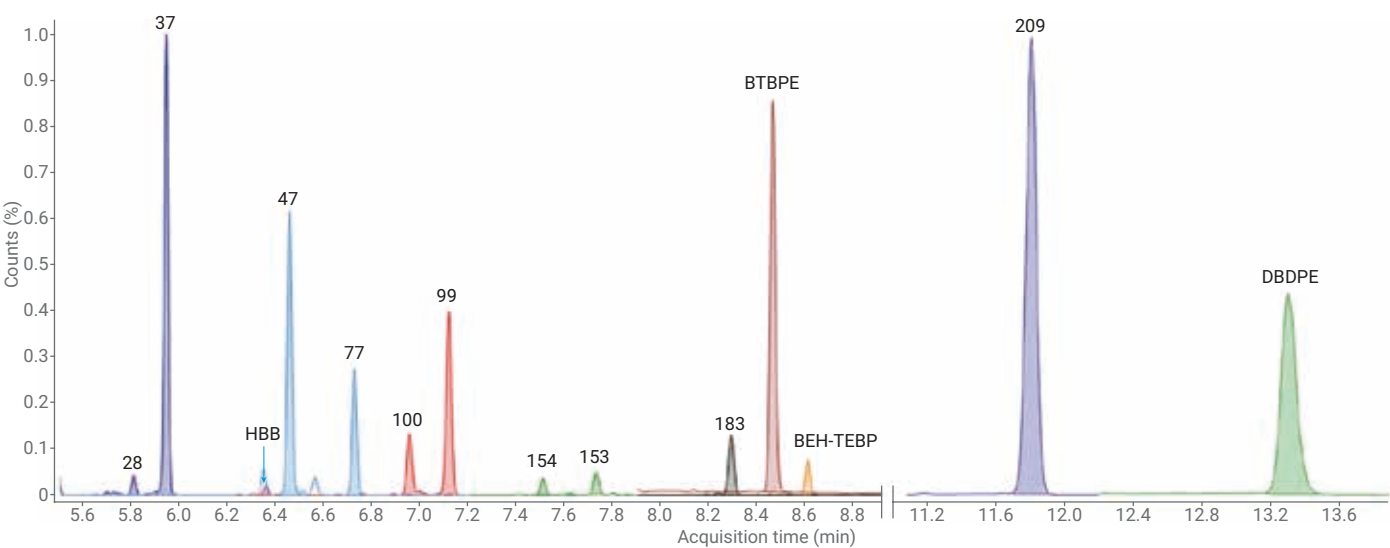


図 2. 実際の環境土壌サンプルから検出された PBDEs および NBFRs の MRM クロマトグラム

結論

このアプリケーションノートでは、7000C シリーズトリプル四重極 GC/MS を用いた 8 つの PBDEs と 6 つの NBFRs の同時分析について説明しました。

7000C トリプル四重極 GC/MS により、土壌中の PBDEs と NBFRs の堅牢で信頼性の高い定量が可能であることが実証されました。

すべての分析対象物について、低濃度およびサブ ng/g の濃度で良好なピーク形状が実現し、高い S/N 比で優れた感度を示しました。S-PLE プロトコルでは、繰り返し分析において、概して低い RSD ですべての分析対象物について良好な回収率が得られました。

参考文献

1. Johnson; et al. *Science of The Total Environment* **2013**, 445 – 446 (0) , 177 – 184.
2. Hoffman; et al. *Environmental Health Perspectives* **2012**, 120 (10) , 1438 – 1442.
3. UNEP, United Nations Environment Program, Stockholm, Sweden **2009**.
4. Covaci; et al. *Environment International* **2011**, 37 (2) , 532 – 556.
5. McGrath; et al. *Journal of Chromatography A* **2016**, 1458, 118 – 125.
6. USEPA, United States Environmental Protection Agency, Washington, USA, **2010**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに
変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2018
Printed in Japan, August 7, 2018
5994-0195JAJP