

## GC/NCI-MSによるエストラジオール類の高感度分析

### Highly Sensitive Analysis of Estradiols using GC/NCI-MS

17-エストラジオールは環境庁から出された環境ホルモン様物質にリスト化されており、女性ホルモンそのものです。河川等に存在する量の調査は建設省、環境庁で行われ、その測定方法はELISA法、*t*-ブチルジメチルシリル(*t*-BDMS)エステルによるGC/MS法(EI法)です。ELISA法は高感度測定が可能ですが、他物質の影響が示唆されています。また*t*-BDMSエステル法では極微量分析(ppbレベル)は困難です。

平成11年12月に環境庁水質保全局水質管理課より出された「水環境保全に向けた取り組みのための要調査項目調査マニュアル」にエストラジオール類も項目として示されています。この調査マニュアルでは誘導体2法メチル誘導体化、ペンタフルオロベンジル誘導体化(PFB化)が示されています。今回は後者のPFB化法を用いました。

本法は、エストラジオール類を負イオン化学イオン化(NCI)で検出可能な化合物に誘導体化することにより、

感度、選択性ともに向上し、目標検出下限が水質試料で0.1ng/L、底質・生物で0.01μg/kgをクリアし、非常に高感度の分析が可能になる新分析法として注目されています。

#### [分析概要]

水質試料は、サロゲート物質を加え、固相抽出法により抽出する。捕集された対象物質をメタノールで溶出し、濃縮乾固後、フェノール性のOH基をPFB化、次いでアルコール性のOH基をトリメチルシリル(TMS)化しGC/NCI-MSにより測定する。(Fig.1 誘導体反応, Fig.2 水質試料の分析法 参照)

底質・水生生物試料については、サロゲート物質を添加し、メタノール:pH5酢酸緩衝液で抽出した後、精製水に溶解し底質は固相抽出、生物試料はジクロロメタン抽出した後濃縮する。カラムクロマトなどによるクリンアップを行った後、水質試料の操作に準じて誘導体化を行い測定する(Fig.3 底質・生物試料の分析法 参照)

Table 1 分析条件  
Analytical conditions

Model	: GCMS-QP5050A
-GC-	
Column	: DB-5H 30m × 0.25mm I.D. df = 0.1μm
Column Temp.	: 50 (2 min)-20 /min-250 -5 /min-300 (5min)
Carrier Gas	: He 250kPa(1min)-120kPa
Injector Temp.	: 280
Injection Method	: Splitless (Sampling Time = 1min)
Injection Volume	: 2μL
-GC/MS-	
Interface Temp.	: 280
Ionization Method	: NCI (i-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> 60kPa)
Scan Range	: m/z 29 - 700
Scan Interval	: 0.5sec
SIM	: 0.2sec
SIM	: m/z 343.30, 269.15, 367.30, 431.35, 347.30

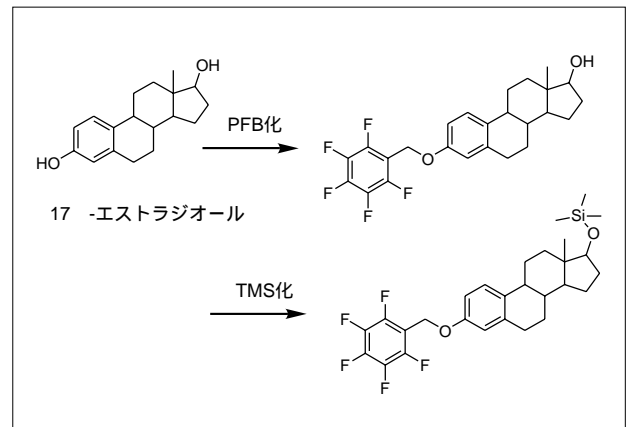


Fig.1 誘導体化反応  
Derivatization of 17-Estradiol

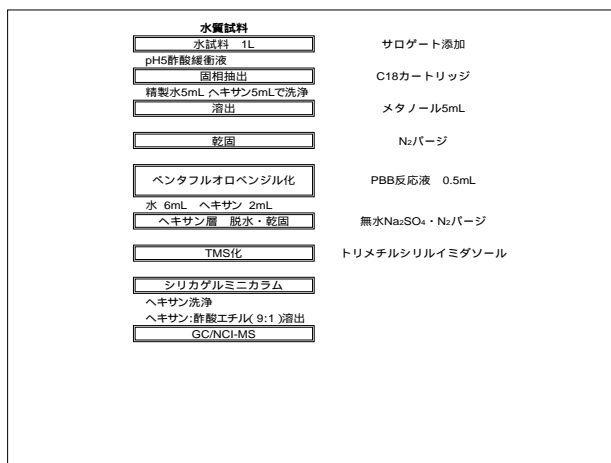


Fig.2 水質試料の分析法  
Analysis Method of Water Samples

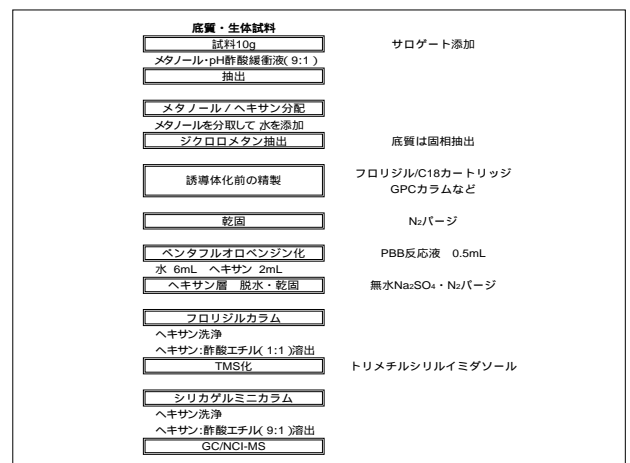


Fig.3 底質・生物試料の分析法  
Analysis Method of Sediments and Biological Samples

## [ マススペクトル ]

測定物質は、17 $\beta$ -エストラジオール、17 $\alpha$ -エストラジオール、エストロン、エチニルエストラジオール、エストリオールの5成分で、サロゲートとしてd<sub>4</sub>-17 $\beta$ -エストラジオールを対象とします。SCANモードで測定してマススペクトルを取得しますと分子イオンは検出されず分子量-181 (PFB基の脱離)のみが強く検出されます。従ってSIMのモニタリングイオン(m/z)もこれらの分子量-181としました。(Fig.4 スキャンモードのTIC, Fig.5 NCIのマススペクトル 参照)

## [ SIM測定 ]

NCI法によるSIM測定では標準試料で各5ng/Lという微量の測定が可能です (Fig.7 5ng/Lのクロマトグラム参照)、直線性では5.0-1000ng/Lでの直線性を確認しました。(Fig.6 検量線 参照)

## [ まとめ ]

エストラジオール類はPFB+TMS化誘導体化処理を行い、NCI法によるGC/MS測定を行うことで、5ng/Lという高感度の測定が可能です。実試料では1000倍~10000倍濃縮することからppt以下の測定が可能です。

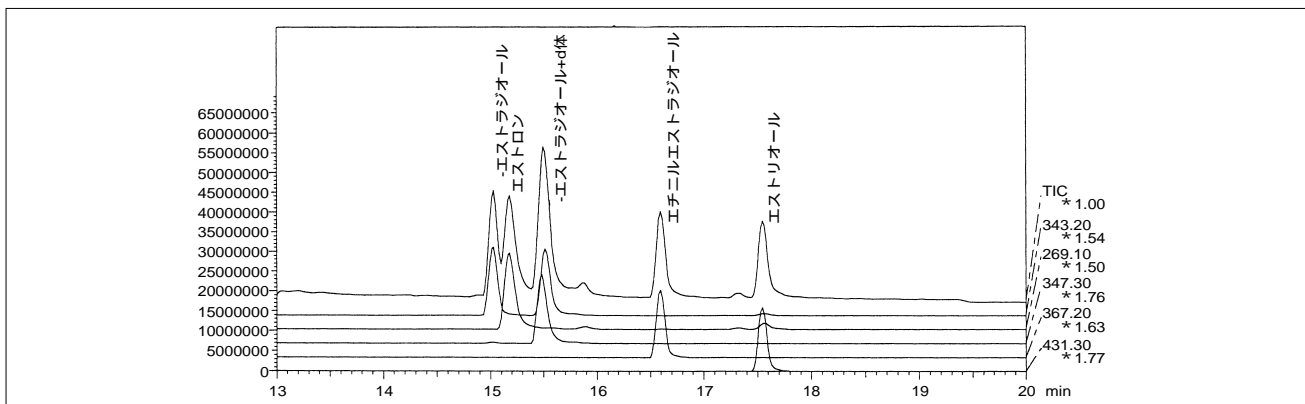


Fig.4 エストラジオール類のNCIによるTIC  
TIC of Estradiols with NCI

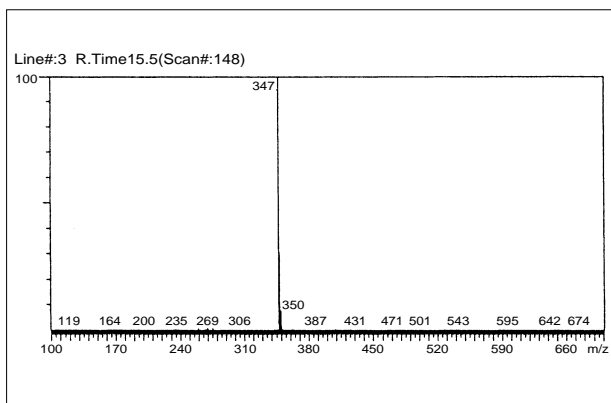


Fig.5 -エストラジオールのNCIマススペクトル  
NCI Mass Spectrum of -Estradiol

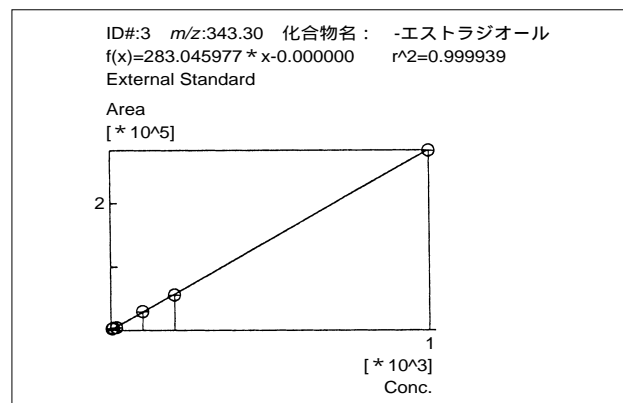


Fig.6 -エストラジオールのNCIによる検量線  
NCI Calibration Curve of -Estradiol

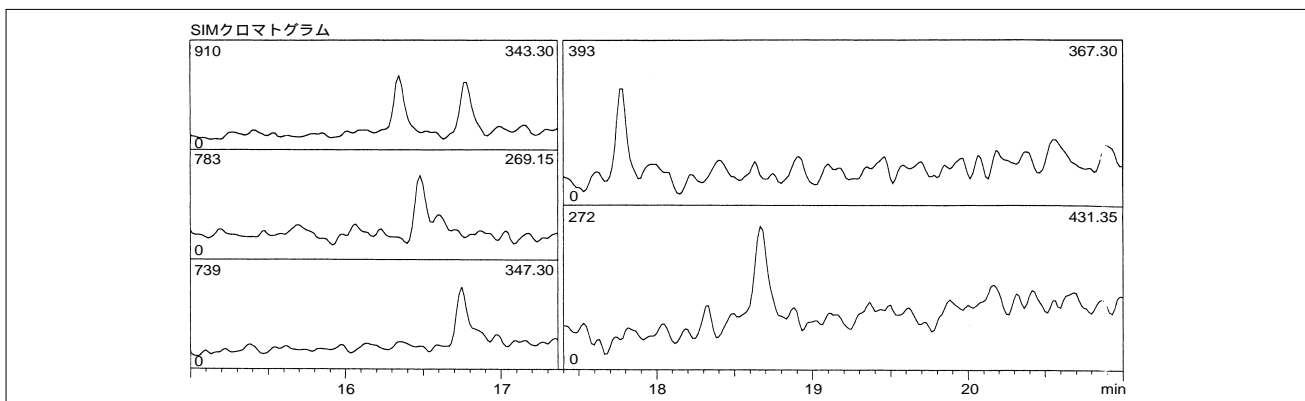


Fig.7 エストラジオール類 5ng/LのNCIによるSIMクロマトグラム  
SIM Chromatograms of Estradiols (5ng/L) with NCI

初版発行：2000年10月

**島津製作所** 分析計測事業部  
応用技術部

島津分析コールセンター

☎ 0120-131691(携帯電話不可)  
● 携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。  
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。  
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>  
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。