The Japan Society for Analytical Chemistry

BUNSEKI KAGAKU Vol. 57, No. 11, pp. 911–912 (2008)
© 2008 The Japan Society for Analytical Chemistry

博士論文要録

スターバー抽出/加熱脱着/ガスクロマトグラフィー/質量分析法によるフェノール性内分泌撹乱化学物質の分析

川口　研

学位授与：星薬科大学（2007年3月15日）

近年，機器分析は目覚ましい進歩を遂げており，高感度な測定を可能にしつつあるが，実際の試料を測定する上では，多種多様なマトリックスから効率よく抽出・濃縮・精製するための試料前処理操作が重要である．分析用試料前処理技術として開発されたスターバー抽出（SBSE）法は，無極性のポリジメチルシロキサン（PDMS）相がコーティングされたガラス製撹拌子（かくはん）を用いて，試料中の微量分析対象物質を効率よく抽出・濃縮する方法である．また，PDMS撹拌子に移行した成分は，加熱脱着（TD）-ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）を用いてオンラインで測定でき，大量の分析対象物質をカラムに導入できるため，高感度な測定が可能である．そのため，SBSE法は，従来の前処理技術である固相抽出（SPE）法や固相マイクロ抽出（SPME）法よりも，操作性及び感度に優れた超微量分析法の構築が期待されている．

我々の生活環境で使用されている高分子素材の多くには，フェノール性化学物質が用いられており，これら化学物質の一部に弱い女性ホルモン用作用が報告されている．また，これら化学物質は生活関連製品を介して暴露される可能性が高く，ヒトに対する生体影響が懸念されている．これらのことから，フェノール性内分泌撹乱化学物質のヒト生体リスク評価が要求されている．このリスク評価を行うためには暴露量評価が必要であり，高感度かつ高精度な微量分析法が求められている．

第1章“SBSE/TD/GC/MS法を用いた河川水中オクチルフェノール（OP），ノニルフェノール（NP）及びビスフェノールA（BPA）の測定”では，フェノール性内分泌撹乱化学物質の一種と考えられているOP，NP及びBPAを測定対象物質に選定し，河川水を対象試料として，SBSE/TD/GC/MS法を用いて河川水試料を測定した．本法のOP及びNPの検出下限は，それぞれ2及び20 ng/Lであり，定量下限は，10及び100 ng/Lとなり，高感度分析法を構築することができた．一方，BPAの検出及び定量下限は，0.5及び2 μg/Lであり，期待以上の感度を得ることはできなかった．BPAは構造式中に2つのフェノール性水酸基を有しているため，極性が高く，無極性であるPDMS相による抽出・濃縮が良好に行われないことが考えられた．更に，BPAは揮発性に乏しいことから，加熱によるPDMS撹拌子からの脱着が不十分であることやGCの注入口又はカラムへの吸着などが推察された．

第2章“*In situ*誘導体化を伴うSBSE/TD/GC/MS法による河川水中フェノール性内分泌撹乱化学物質の一斉分析”では，測定対象物質として，内分泌撹乱作用の疑われるフェノール性化学物質である2,4-ジクロロフェノール（DCP），4-*tert*-ブチルフェノール（BP），OP，NP，ペンタクロロフェノール（PCP）及びBPAを選定し，計6種類のフェノール性内分泌撹乱化学物質の一斉分析法を試みた．これまでに，GC分析におけるフェノール性化学物質の誘導体化は種々の報告がなされている．最も広く用いられている誘導体化法は，シリル化である．この方法は，様々な官能基（水酸基，アルデヒド基，カルボキシ基及びアミノ基）を誘導体化することが可能である．しかし，水が存在すると加水分解が起こり，誘導体化反応が進行できないため，シリル化は，水系試料を対象としたSBSE法に適用することは，困難である．他方，無水酢酸を用いるアシル化は，水が存在する条件下でも，フェノール性水酸基を誘導体化することが可能である．そこで，測定試料中に無水酢酸を加えて，その場で誘導体化反応を行うと同時に，SBSE法で抽出・濃縮する*in situ*誘導体化法を検討した．誘導体化を行うことで，極性の低下及び揮発性の向上を目指した．本法のDCP，BP，OP，NP，PCP及びBPAの検出下限は，それぞれ2，1，0.5，5，2及び2 ng/Lであり，定量下限は，10，5，2，20，10及び10 ng/Lとなり，高感度な測定法が構築された．本法の有用性を確認するために，河川水を用いて添加回収試験を行った結果，回収率93.9～113.0%（相対標準偏差，RSD＜7.2%）と良好であった．本法は，河川水中フェノール性内分泌撹乱化学物質の高感度，高精度かつ簡便な測定法として有用であった．

第3章“*In situ*誘導体化を伴うSBSE/TD/GC/MS法によるヒト尿中フェノール性内分泌撹乱化学物質の一斉分析”では，第2章で開発した*in situ*誘導体化を伴うSBSE/TD/GC/MS法をヒト尿中フェノール性内分泌撹乱化学物質の測定に応用し，当該化学物質の暴露実態を調査した．

ヒト生体リスク評価を行うためには，暴露量を求めることが必要である．一般に，フェノール性化学物質が経口で摂取された場合，グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体とし

現連絡先の機関　産業技術総合研究所計測標準研究部門有機分析科バイオメディカル標準研究室：305-8563 茨城県つくば市梅園1-1-1
学会受付　2008年8月22日

NII-Electronic Library Service

The Japan Society for Analytical Chemistry

て代謝され，尿中に排泄されることが知られている．これまでに，NPやBPAにおいても，グルクロン酸抱合体として尿中に排泄されることが報告されている．したがって，ヒト尿中フェノール性内分泌撹乱化学物質を測定することで，当該化学物質の暴露量を推測することが可能である．

In situ 誘導体化を伴うSBSE/TD/GC/MS法をヒト尿試料の分析に適用した結果，ヒト尿中の夾雑成分により，OP及びNPの誘導体化効率が低下した．そこで，アセトニトリルを用いる除タンパク操作を組み込むことで問題点を克服した．*In situ* 誘導体化を伴うSBSE法の最適化条件を検討した結果，DCP，BP，OP，NP，PCP及びBPAの検出限界は，それぞれ0.02，0.01，0.01，0.05，0.02及び0.02 ng/mLであり，定量限界は，0.1，0.05，0.05，0.2，0.1及び0.1 ng/mLとなり，高感度な測定法を構築することができた．本法の有用性を確認するために，ヒト尿試料を用いて添加回収試験（$n = 6$）を行った結果，回収率95.0～101.8%（RSD＜8.6%）と良好な結果を得ることができた．本法を用いて，健常人5名から提供された尿試料を測定した結果，6種類のフェノール性内分泌撹乱化学物質を定量することができた．本法は，ヒト尿中フェノール性内分泌撹乱化学物質の簡便で，高感度かつ高精度な測定法として有用であった．また，ヒト尿試料中からフェノール性内分泌撹乱化学物質を定量することができ，当該化学物質の暴露量を推測することができた．

本研究では，フェノール性内分泌撹乱化学物質のヒト生体暴露実態を解明するために，SBSE/TD/GC/MS法の適用を試みた．SBSE法の操作過程に誘導体化試薬を添加する *in situ* 誘導体化法を検討した結果，簡便かつ高感度な分析法の構築が達成された．SBSE法は，大量のPDMS相をコーティングした撹拌子を用いることで，高い回収率が得られ，幅広い物質に適用可能である．また，試料抽出に有機溶媒を使用しないことから，環境にやさしい分析法であり，今後，更なる発展が期待される．

公表論文

1) M. Kawaguchi, K. Inoue, M. Yoshimura, R. Ito, N. Sakui, H. Nakazawa : *Anal. Chim. Acta*, **505**, 217 (2004).
2) M. Kawaguchi, K. Inoue, M. Yoshimura, N. Sakui, N. Okanouchi, R. Ito, Y. Yoshimura, H. Nakazawa : *J. Chromatogr. A*, **1041**, 19 (2004).
3) M. Kawaguchi, N. Sakui, N. Okanouchi, R. Ito, K. Saito, S. Izumi, T. Makino, H. Nakazawa : *J. Chromatogr. B*, **820**, 49 (2005).

☆

Digest of Doctoral Dissertation

Stir Bar Sorptive Extraction/Thermal Desorption/Gas Chromatography/Mass Spectrometry for Trace Analysis of Phenolic Xenoestrogens

Migaku KAWAGUCHI

Bio-Medical Standard Section, National Metrology Institute of Japan (NMIJ), National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 1-1-1, Umezono, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8563

(Awarded by Hoshi University dated March 15, 2007)

Stir bar sorptive extraction (SBSE) is a sample preparation technique that involves the extraction and enrichment of organic compounds from a liquid sample. The present study focused on the determination and assessment of phenolic xenoestrogens exposure. Firstly, the determination of octylphenol (OP), nonylphenol (NP) and bisphenol A (BPA) in river water samples by SBSE and thermal desorption (TD)/gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) was developed. The limits of detection (LODs) of OP and NP were 2 and 20 ng L^{-1}, respectively. On the other hand, the LOD of BPA was 0.5 μg L^{-1}. Secondly, a simultaneous analysis of phenolic xenoestrogens, such as OP, NP, BPA, dichlorophenol (DCP), butylphenol (BP) and pentachlorophenol (PCP) in river water samples by SBSE with *in situ* derivatization and thermal desorption (TD)/gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) was developed. The LODs of phenolic xenoestrogens in water samples were 0.5～5 ng L^{-1}. A highly sensitive analysis was achieved by using SBSE with *in situ* derivatization method. Thirdly, the SBSE with *in situ* derivatization method was applied to measure phenolic xenoestrogens in human urine sample. The LODs of phenolic xenoestrogens in human urine samples were 0.01～0.05 ng mL^{-1}. In addition, the quantity of phenolic xenoestrogens in human urine samples was obtained. Exposure assessments of phenolic xenoestrogens could be performed.

(Received August 22, 2008)

Keywords : stir bar sorptive extraction ; endocrine disruptor ; phenolic xenoestrogens ; thermal desorption ; gas chromatography/mass spectrometry.

NII-Electronic Library Service