

カラムスイッチング法を用いた環境ホルモン関連物質のLC/MS 分析

日本電子応研センター ○森田徹一郎・高橋 豊・上田祥久・樋口哲夫

Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (LC/MS) Analysis of Endocrine Disruptors by using Column Switching System, Tetsu-ichiro Morita, Yutaka Takahashi, Junichi Ohsuga, Tetsuo Higuchi, (MS Application Laboratory JEOL Ltd.)

1.はじめに

近年、「外因性内分泌攪乱物質」いわゆる「環境ホルモン」が注目をされている。これら環境ホルモン関連物質の分析においては、低濃度での分析が求められる。低濃度のサンプルを分析する際、出来る限り注入量を増やして分析を行いたい。しかし、使用するカラム内径により注入可能なサンプル量には限界がある。そのような場合にカラムスイッチング法を用いる事により大量注入を行う事が可能である。

一般的にカラムスイッチング法とはカラムを2本以上使用して、カラム間に配置したバルブを切り替える事により連続的に分析を行う手法である。今回我々が用いたカラムスイッチングシステムは、まず大量に注入したサンプルを第一カラムで脱塩・濃縮を行った後にバルブを切り替えて流路を変更し、第一カラムで濃縮したサンプルを第二カラムで分離するシステムである。このカラムスイッチングシステムを用いて、今回我々は環境ホルモン関連物質のLC/MS分析を行った。対象試料には、環境ホルモン関連物質の中でもより低濃度での分析が求められる β -エストラジオールを用いた。

2.実験

LC 条件としては移動相 A に超純水、B にアセトニトリルを使用した。サンプル注入後、まず B%を 0%で 5 分間維持する事により第一カラムで脱塩と濃縮を行った。5 分後にスイッチングバルブをチャンネル 2 に切り替えるのと同時に、リニアグラジエント (20 分間で B% = 100%) をスタートさせ、濃縮したサンプルを第一カラムから溶出させ、第二カラムで分離を行い、APCI/MS で検出を行った。(図 1)

LC および MS の測定条件は右記の通りである。

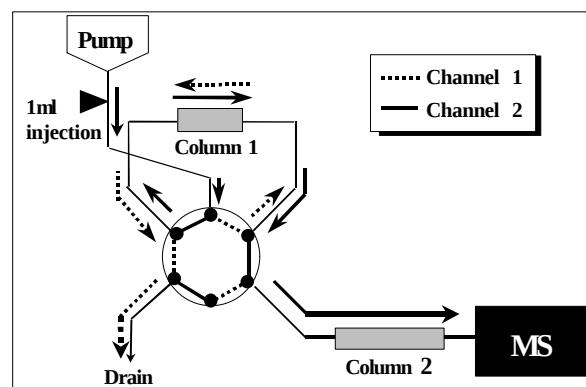


図 1 カラムスイッチングシステム

HPLC 条件

液体クロマトグラフ : HP1100

第一カラム : Inertsil ODS-2 (4.0mm I.D. x 10mm)

第二カラム : L-Column ODS (4.6mm ID x 150mm)

移動相 A : H₂O、B : MeCN

B% : 0%-0%(5min)-100%(25min, linear gradient)

流速 : 1.0ml/min

カラム温度 : 40

注入量 : 1.0ml

MS 条件

質量分析器 : JEOL JMS-LCmate

加速電圧 : 2.5kV

イオン化法 : APCI(-)

リングレンズ電圧 : 40V

オリフィス電圧 : 0V

気化管温度：500

ネブライジングガス：窒素ガス

スイッチングスピード：1sec

スイッチングモード：加速電圧スイッチング

モニターイオン：m/z 271.2

分解能 750

検出器電圧：500V

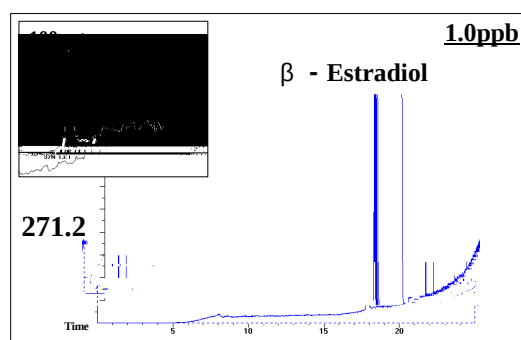


図2 β-エストラジオールの低分解能 SIM 測定結果
(試料濃度 1ppb および 100ppt)

3. 結果および考察

市販のβ-エストラジオールをH₂Oにて0.1, 1.0, 10ppbの濃度に調製し、それぞれ低分解能SIM測定を行った。

その結果、各濃度において良好なクロマトグラムが得られた。本システムを用いる事により、100pptの濃度での検出が可能であった。(図2)また、同時に直線性の良い検量線が得られた。(図3)

これらの事より、カラムスイッチング法を用いた高感度分析が可能である事が示唆された。

本システムの性格上、濃縮を行う第一カラムへの目的化合物の吸着などが問題になってくると思われる。本システムを用いた場合の再現性や、カラムスイッチング法による実試料の前処理の簡略化、その場合の第一カラムの耐久性などについては現在検討中である。

また、農薬類など他の化合物への応用についても検討を行っていく予定である。

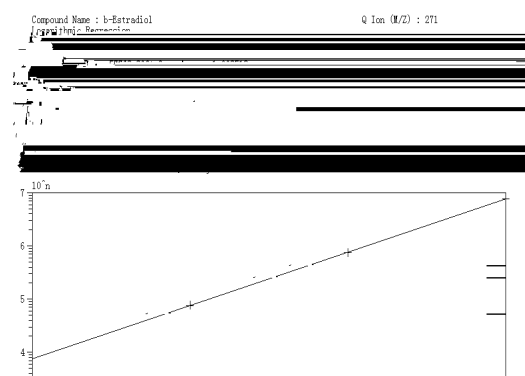


図3 β-エストラジオールの検量線 (0.1～10ppb)

4. 参考文献

環境庁「外因性内分泌攪乱化学物質問題への環境庁の対応方針について」1998年

森田昌敏;第24回日本環境科学会講演会資料集、1-8(1998).

田中広幸、大平真義、古野正浩、第4回LCテクノプラザ講演要旨集, p102 (1999)