

## 2PF-31

### GC/MS による環境水中のグルココルチコイド化合物の定量

○津田泰三<sup>1</sup>, 卯田隆<sup>1</sup>, 坪田てるみ<sup>1</sup>, 田中勝実<sup>1</sup>, 奥村陽子<sup>1</sup>, 居川俊弘<sup>1</sup>, 中村昌文<sup>2</sup>, 池内俊貴<sup>3</sup>, 岡田俊樹<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>滋賀県琵琶湖環境科学センター, <sup>2</sup>(株) 日吉, <sup>3</sup>長浜バイオ大学, <sup>4</sup>滋賀県工業技術総合センター)

#### 【はじめに】

平成 23~25 年度に、長浜バイオ大学、(株) 日吉、滋賀県工業技術総合センターおよび当研究センターは「グルココルチコイド化合物のバイオアッセイ法による新規検出評価技術の開発」をテーマとした共同研究を実施してきた。当研究センターは新規開発したバイオアッセイ法で得たデータと機器分析法データとの整合性評価を分担研究として行った。両法の整合性を評価・確認するために標準品として用いるコルチゾールおよびその他 7 種類のデオキシコルチコステロン、コルチゾン、コルチコステロン、プレドニゾン、プレドニゾロン、トリアムシノロンアセトニドおよびデキサメタゾンを含む 8 種類のグルココルチコイド化合物について、機器分析法による環境水中の定量法を確立した。

測定方法としてはガスクロマトグラフ質量分析法 (GC/MS 法) を採用し、徳永ら<sup>1)</sup>による誘導体化法を採用することにより、上記 8 種類のグルココルチコイド化合物について分析法の検討を実施した。本討論会では、確立した GC/MS 法の概略および琵琶湖水への適用例を報告する。

#### 【方法】

図 1 に示した分析法フローに従い、環境水から固相抽出法によりグルココルチコイド化合物を捕集し、クリーンアップおよび濃縮乾固後、下記の方法により誘導体化し、GC-MS により定量する。

〔誘導体化法〕各化合物標準液 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 0.2, 0.5, 1.0  $\mu\text{g}$  (10  $\mu\text{g/mL}$  メタノール溶液  $\rightarrow$  0  $\mu\text{L}$  ~ 100  $\mu\text{L}$ ) および各試料溶出液に内部標準液 (コレステロール 10  $\mu\text{g/mL}$  メタノール溶液) 20  $\mu\text{L}$  を添加後、溶媒揮散 (窒素流下 40°C 加熱) を行い、誘導体化 (TMS 化) を以下の条件で実施した。

BSTFA 0.2mL + 酢酸ナトリウム 5mg  $\rightarrow$  60°C, 3 時間反応 (5mL 共栓付試験管内)

[GC-MS 測定条件]

#### ガスクロマトグラフ

カラム: RESTEK Rtx-5MS (30m  $\times$  0.25mm i.d., 膜厚 0.25 $\mu\text{m}$ )

注入口: 280°C    注入量: 1 $\mu\text{L}$     注入方式: スプリットレス

キャリアーガス: He 1.0mL/min

カラム温度: 60°C (1min)  $\rightarrow$  10°C/min  $\rightarrow$  250°C (1min)  $\rightarrow$  2.5°C/min  $\rightarrow$  320°C (2min)

---

### GC/MS determination of glucocorticoids in environmental water samples

Taizo TSUDA<sup>1</sup>, Takashi UDA<sup>1</sup>, Terumi TSUBOTA<sup>1</sup>, Katsumi TANAKA<sup>1</sup>, Yoko OKUMURA<sup>1</sup>, Toshihiro IGAWA<sup>1</sup>, Masafumi NAKAMURA<sup>2</sup>, Toshitaka IKEUCHI<sup>3</sup>, Toshiki OKADA<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Lake Biwa Environmental Research Institute: 5-34 Yanagasaki, Ohtsu, Shiga 520-0022

Tel +81-77-526-4748, Fax +81-77-526-4803, E-mail [tsuda-taizo@pref.shiga.lg.jp](mailto:tsuda-taizo@pref.shiga.lg.jp)

<sup>2</sup>Hiyoshi Corporation: 908 Kitanoshicho, Omihachiman, Shiga 523-8555

<sup>3</sup>Nagahama Institute of Bio-Science and Technology: 1266 Tamuracho, Nagahama, Shiga 526-0829

<sup>4</sup>Industrial Research Center of Shiga Prefecture: 232 Kamitoyama, Ritto-Shi, Shiga 520-3004

## 質量分析計

イオン化電圧: 70eV    イオン化電流: 250 $\mu$ A    インターフェース温度: 290 $^{\circ}$ C    イオン源温度: 230 $^{\circ}$ C  
 スキャンモード: Full Scan    マスレンジ: 100~700

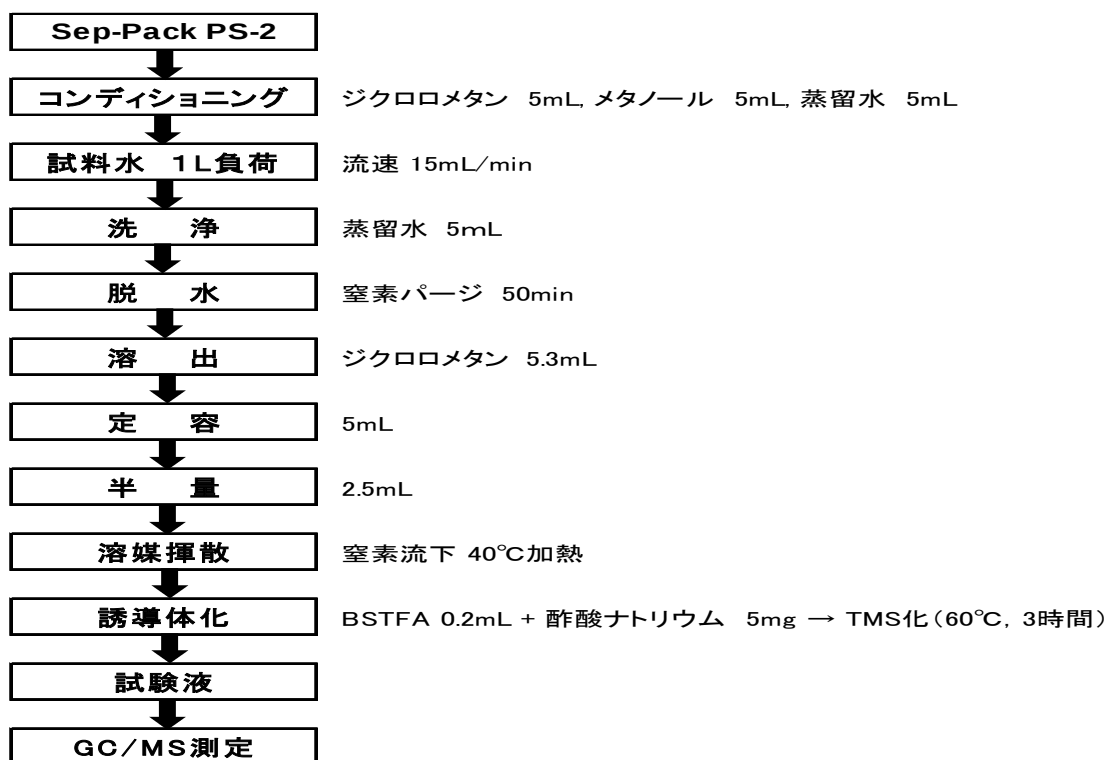


図1 分析法フローシート

## 【結果と考察】

8 種類のグルココルチコイド化合物について実施した添加回収実験の結果を表 1 にまとめた。添加回収実験は、琵琶湖の南湖（柳が崎）で採取した水試料 1 L に 8 種類のグルココルチコイド化合物（各 10  $\mu$ g/mL）の混合メタノール溶液を 10  $\mu$ L 添加（0.1  $\mu$ g/L）し、フローシートに従い実施した。GC/MS による定量については、2 種類のモニターイオン（1st：定量イオン，2nd：確認イオン）で行い、表 1 に示した添加回収率は定量イオンによる定量値から算出した。コルチゾンおよびトリアムシノロンアセトニドについてはやや高めの回収率を示したが、SD および平均値から算出される変動係数 CV (%) はいずれも 10% 以内の良好な値となった。なお、定量限界値はいずれの化合物も 0.1  $\mu$ g/L であった。

表1 各種グルココルチコイド化合物の添加回収実験結果

| 化合物名           | モニターイオン (m/z) |     | 添加回収率 (%) |     | 定量限界値<br>$\mu$ g/L |
|----------------|---------------|-----|-----------|-----|--------------------|
|                | 1st           | 2nd | 平均値 (n=3) | SD  |                    |
| デオキシコルチコステロン   | 387           | 271 | 90        | 4.3 | 0.1                |
| コルチゾン          | 373           | 486 | 139       | 0.9 | 0.1                |
| コルチコステロン       | 403           | 315 | 95        | 2.5 | 0.1                |
| プレドニゾン         | 484           | 574 | 101       | 9.6 | 0.1                |
| コルチゾール         | 488           | 375 | 110       | 4.3 | 0.1                |
| プレドニゾロン        | 578           | 486 | 96        | 15  | 0.1                |
| トリアムシノロンアセトニド  | 520           | 578 | 130       | 6.0 | 0.1                |
| デキサメタゾン        | 446           | 521 | 101       | 2.5 | 0.1                |
| コレステロール (内部標準) | 368           | 458 | —         | —   | —                  |

## 【参考文献】

- 1) 徳永裕司, 木村俊夫, 川村次良: トリメチルシリル化グルココルチコイドのガスクロマトグラフィーによる定量, 薬学雑誌, 99, 800-806 (1979)