

In-situ 誘導体化スターバー抽出-加熱脱着 GC/MS による河川水中ビスフェノール A 及び アルキルフェノール類の定量



<要旨> Twister (PDMS 液相) を用いるスターバー抽出法は、in-situ 誘導体化により適用できる化合物範囲を拡大することが可能です。このアプリケーションノートでは、極性化合物のビスフェノール A 等に対して無水酢酸を用いる in-situ アセチル化を行いました。その結果、河川水からのビスフェノール A 及びアルキルフェノール類の抽出・濃縮に良好な結果を得ることができました。

Key Words: スターバー抽出 (Twister)、SBSE、in-situ 誘導体化、加熱脱着、GC/MS、ビスフェノール A、アルキルフェノール、環境ホルモン

1. はじめに

ビスフェノール A 及びアルキルフェノール類は、1997 年頃から内分泌系への影響が懸念される物質 (環境ホルモン) として社会的に関心が持たれています。ビスフェノール A については、近年、動物の胎児や産仔に対し、これまでより極めて低い用量の投与により影響が認められたことが報告され、胎児や乳幼児への影響が懸念されています。欧米諸国でも、このような報告から、ヒトの健康に影響があるかどうか再評価が行われています。

水試料に対するこれらの化合物の分析には、固相抽出 (SPE) で 1000 倍濃縮を行い (誘導体化)、GC/MS を用いる高感度な手法が利用されています。一方、スターバー抽出 (Stir Bar Sorptive Extraction: SBSE) 法は、ポリジメチルシロキサン (PDMS) をコーティングした攪拌子を試料溶液中で攪拌させるだけで目的成分を抽出・濃縮できる簡便な手法です。抽出のメカニズムは、固相マイクロ抽出 (SPME) 法と同様に液々分配の理論を応用しています。SBSE 法では、PDMS 液相量を SPME 法の約 50 倍確保できるため、回収率の向上が期待できます。しかしながら、PDMS が無極性であるためビスフェノール A のような極性化合物では、回収率を向上させるため、場合によっては in-situ 誘導体化や塩析などが必要となります。本アプリケーションノートでは、SBSE 法を河川水中ビスフェノール A 及びアルキルフェノール類 7 種の抽出に用いました。抽出効率を改善するために無水酢酸を用いる in-situ アセチル化を適用し、良好な結果が得られましたので報告します。

2. 測定条件

スターバー: Gerstel Twister (PDMS 0.5mm, 10mm)
装置: Gerstel TDS + Agilent 6890 GC/5973 MSD

10ml バイアルに試料 10ml、炭酸カリウム 0.5g、無水酢酸 0.5ml を入れ、Twister で室温、1000rpm により 1 時間抽出を行いました。抽出後、Twister を取り出し、蒸留水で洗浄後、無塵紙で拭き、ガラスチューブに入れ、加熱脱着 GC/MS で測定を行いました。

(TDS)
熱脱着温度: 20°C (0.5min)-60°C/min-250°C (5min)
脱着流量 : 50ml/min
CIS : ソルベントベントモード,
ページオフタイム 3min,
マルチバップルライナー
CIS 温度 : -100°C (0.5min)-12°C/s-300°C (10min)
(GC/MS)
カラム : HP-5MS 30m, 0.25mm, 0.25µm
オープン温度: 40°C (3min)-10°C/min-280°C (5min)
キャリアガス: 1.2ml/min (He, 定流量モード)
トランスファーライン温度: 280°C
イオン化モード: EI, 70eV
SIM イオン: Table 2 参照

3. 結果及び考察

3.1 in-situ 誘導体化の検討

SBSE 法による抽出を行いながら、ビスフェノール A 及びアルキルフェノール類のフェノール性水酸基を無水酢酸により以下のようにアセチル化しました。

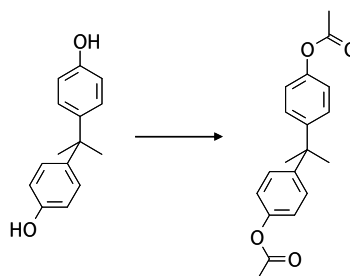


Table 1 に、誘導体化なし及び in-situ 誘導体化した場合の各対象化合物のピーク面積値を示しました。アルキル鎖の短い 4-t-ブチルフェノール及び水酸基を2つ持つビスフェノール A はアセチル化することで、大幅に抽出効率が改善しました。

Table 1 誘導体化なし及び in-situ 誘導体化によって得られたピーク面積値

	SBSE 誘導体化なし (x 10 ³)	SBSE アセチル化 (x 10 ³)
1. 4-t-Butylphenol	1,899	22,328
2. 4-n-Pentylphenol	13,407	23,493
3. 4-n-Hexylphenol	24,872	27,807
4. 4-t-Octylphenol	23,474	20,760
5. 4-n-Heptylphenol	33,787	30,229
6. Nonylphenol *	3,556	2,764
7. 4-n-Octylphenol	22,308	12,196
8. Bisphenol A	368	38,954

* 代表的な1つのピーク

Fig. 1 に、抽出時間 (in-situ 誘導体化) 時間と各対象化合物のピーク面積値の関係を示しました。15~90分では、右肩上がりの傾向をしましたが、抽出時間は迅速性も考慮し60分としました。

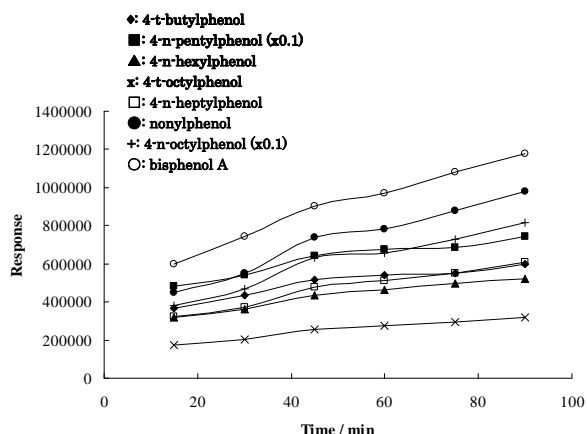


Fig. 1 抽出時間とピーク面積値の関係

3.2 バリデーション

Table 2 に、濃度範囲 1~1000ng/l における検量線の決定係数 (r^2) 及びメソッド検出限界を示しました。 r^2 は 0.9981~0.9999 で、メソッド検出限界は 0.1~3.2ng/l で、良好な結果でした。Fig. 2 に、濃度 50ng/l の標準水溶液から抽出したビスフェノール A 及びアルキルフェノール類のアセチル誘導体の SIM クロマトグラムを示しました。Table 3 に、河川水からのビスフェノール A 及びアルキルフェノール類の回収率 (n=6) を示しました。濃度 10ng/l で 85.3~105.9% (RSD=3.0~11.0%)、100ng/l で 88.3~105.8% (RSD=1.6~8.3%) でした。本法で、河川水 (多摩川) を定量すると、4-t-ブチルフェノール、ノニルフェノール及びビスフェノール A が検出され、それぞれ 2.5、14.9 及び 11.3ng/l でした。

Table 2 検量線の決定係数 (r^2) 及びメソッド検出限界

	T-ion	Q-ion	r^2 *	メソッド 検出限界 (ng/l)
1. 4-t-Butylphenol	192	135	1.0000	0.7
2. 4-n-Pentylphenol	164	107	0.9937	1.3
3. 4-n-Hexylphenol	220	107	0.9991	0.3
4. 4-t-Octylphenol	248	135	0.9889	1.2
5. 4-n-Heptylphenol	234	107	0.9912	0.5
6. Nonylphenol **	135	262	0.9948	3.2
7. 4-n-Octylphenol	107	248	0.9955	0.1
8. Bisphenol A	312	213	0.9961	0.6

* r^2 : 濃度範囲 1~1000ng/l

** 代表的な1つのピークに対して

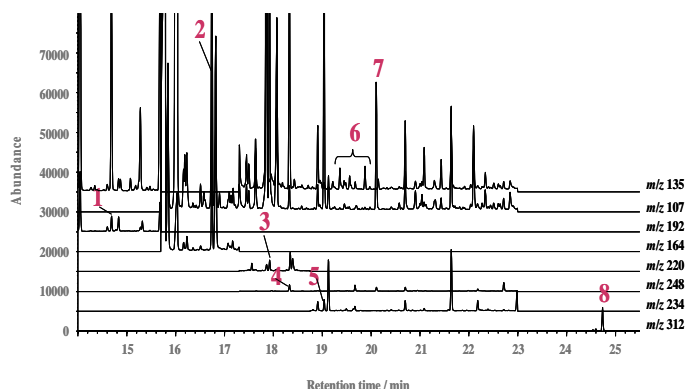


Fig. 2 標準水溶液 (50ng/l) から抽出したビスフェノール A 及びアルキルフェノール類 (アセチル誘導体) の SIM クロマトグラム

Table 3 河川水からのビスフェノール A 及びアルキルフェノール類の回収率 (n=6)

	回収率 (RSD)	
	at 10ng/l	at 100ng/l
1. 4-t-Butylphenol	90.0 (4.5)	97.3 (1.6)
2. 4-n-Pentylphenol	102.4 (3.0)	94.0 (2.0)
3. 4-n-Hexylphenol	85.3 (3.2)	90.9 (3.5)
4. 4-t-Octylphenol	96.8 (3.0)	92.6 (3.8)
5. 4-n-Heptylphenol	105.9 (5.6)	88.3 (5.8)
6. Nonylphenol	95.0 (5.8)	100.9 (6.1)
7. 4-n-Octylphenol	94.1 (11.0)	91.4 (8.3)
8. Bisphenol A	90.9 (4.7)	105.8 (4.1)

4. まとめ

In-situ 誘導体化スターバー抽出-加熱脱着 GC/MS は、河川水中ビスフェノール A 及びアルキルフェノール類に対して、簡便で高感度な手法でした。

5. 参考文献

[1] S. Nakamura, S. Daishima, J. Chromatogr. A (2004) 1038, 291

【GCMS-200902NK-002】

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1
www.agilent.com/chem/jp



Agilent Technologies