

# 外因性内分泌攪乱化学物質の分析法に関する検討（その1） シリカゲルから溶出するベンゾフェノン定量妨害物質について

川井仁之<sup>1</sup>，田崎和子<sup>1</sup>，中川和子<sup>1</sup>，吉川俊一<sup>1</sup>，吉田宏三<sup>1</sup>，寺井洋一<sup>1</sup>

## Studies on the analytical methods of endocrine disrupters ( ) Substances interfering the benzofenone analysis eluted from silica gel columns

Masayuki KAWAI , Kazuko TAZAKI , Kazuko NAKAGAWA ,  
Shunichi YOSHIKAWA , Kozo YOSHIDA , Yoichi TERAII

**Abstract :** In the GC/MS analysis of benzofenone in water samples, the extracts are commonly purified with a silica gel column. However, an interfering peak appeared on the GC/MS chromatogram at the same retention time as the peak of benzofenone, which interfere the benzofenone analysis. The interfering substance was thought to be the impurity in the silica gel. Following GC/MS analysis using various capillary columns, we found the interfering substance was benzofenone. Benzofenone was detected in several materials, especially in the label affixed on the container of silica gel. We determined that the concentration of benzofenone in the silica gel increased with time under the condition kept in 60-80 °C with the label in a glass vessel. Accordingly, it is considered that the label was the probable source of the interference at the time of benzofenone analysis and this contamination occurred in the following situation. Since we stored a silica gel container in an air-tight bag, benzofenone from the label vapored into the bag air during storage, which might have contaminated the silica gel in the container.

**Key words :** 環境ホルモン Endocrine disrupters , ベンゾフェノン benzofenone , シリカゲル silica gel

### はじめに

ベンゾフェノン及びその誘導体は医薬品原料や紫外線吸収剤、保香剤など多くの目的で使用されている外因性内分泌攪乱化学物質（環境ホルモン）である。近年、環境ホルモンによるヒトや野生動物への影響が危惧されており、環境中からの環境ホルモンの検出が問題となっている。特にベンゾフェノンは環境中からの検出頻度が高く、環境ホルモン実態調査の対象項目に指定されており、全国で継続的にモニタリングを行うことが重要である。

現在、この物質の水質分析法としてヘキサンによる溶媒抽出法や精油定量装置を用いた蒸留法、固相カラムを使用した固相抽出法が主流であり、試料中に夾雑物が多い場合は、市販固相シリカゲルなどでクリーンアップを行った後GC/MS 分析を行っている<sup>1)</sup>。この操作において、シリカゲルからベンゾフェノン定量妨害物質が溶出し、ベンゾフェノンの定量に影響を与えることを我々は先に報告したところである<sup>2)</sup>が、その妨害物質について詳細に検討した報告は未だない。そこで、シリカゲルから溶出するベンゾフェノン定量妨害物質の定性分析を行い、その正体を明らか

にするとともに、汚染源の特定及び汚染源からシリカゲルへの汚染の進行状況を検討したので報告する。

### 方法

#### 1. 試薬・標準品

ベンゾフェノン標準品、フルオランテン-d10標準品は、和光純薬製環境分析用試薬を用いた。固相用シリカゲルは、V社製固相抽出用充填剤 BODESIL-SI を使用した。固相抽出には、GL Sciences 社製ガラス SPE カートリッジキットを用いた。

#### 2. GC/MS 分析条件

装置：島津 GC/MS QP-5000

カラム：DB-5 (J&W Scientific, 膜厚0.25 μm, 長さ30m, 内径0.32mm)

カラム温度：50 (2 min)-(20 /min)-170 -(10 /min)-270 -(20 /min)-300

キャリアガス：ヘリウム20mL/min

注入口温度：250

インターフェース温度：270

注入法：スプリットレス法

<sup>1</sup> 京都市衛生公害研究所 環境部門

### 3. 定量イオン (参照イオン)

ベンゾフェノン : 182 (105)

フルオランテン-d10 : 212

## 結果及び考察

### 1. 妨害物質の定性分析

活性化 (130℃, 15時間) した固相用シリカゲルを用いて、ブランク試料をクリーンアップすると、ベンゾフェノン定量妨害物質が検出され、更にこの妨害物質量はシリカゲルの充填量と正の相関を示すため、この妨害物質はシリカゲルから溶出したものであると我々は先に報告した<sup>2)</sup>。

そこで、まず複数の GC カラムを用いて分離を検討することにより、この妨害物質の定性分析を行った。すなわち、シリカゲルから溶出させた妨害物質を DB-1, DB-5, DB-17及び DB-WAX カラムを用いて分析した。なお、各カラムでの GC 昇温条件は、各カラムにおけるピークの分離が最適である条件に各々設定し分析を行った。その結果、表1に示すように、いずれのカラムを使用した際にもベンゾフェノン標準と妨害物質の保持時間はほぼ同じであり、また、定量イオン/参照イオン面積比も同様であった。従って、この妨害物質は、分析対象物質であるベンゾフェノンそのものである可能性が高いと考えられた。

表1 GC/MSによる妨害物質の定性

使用カラム	保持時間 (min)		面積比	
	標準物質	妨害物質	標準物質	妨害物質
DB 1	22.733	22.750	0.410	0.411
DB 5	10.450	10.458	0.368	0.363
DB 17	17.750	17.742	0.404	0.407
DB WAX	20.725	20.725	0.476	0.454

### 2. 試薬・容器類の汚染状況

我々は、固相用シリカゲルは納品後、チャック付ポリ袋に入れ、更に吸湿乾燥剤入りのデシケータ中に保管している。シリカゲルへの妨害物質の吸着は、保管状態における汚染と仮定し、次の検討を行った。固相用シリカゲル容器、容器の内蓋、外蓋、容器ラベル、チャック付ポリ袋、吸湿乾燥剤をそれぞれ20%アセトン-ヘキサン溶液20mLにより超音波抽出し、それぞれの対象物質1g中に含まれる妨害物質量を定量した。その結果、表2に示すように、容器ラベル、チャック付ポリ袋、吸湿乾燥剤から妨害物質が検出され、特にシリカゲル容器ラベルに妨害物質は多く含まれることがわかった。予備試験として、他社製品の溶媒瓶

ラベルについても同様の試験を行った結果、妨害物質濃度はV社製シリカゲル容器ラベルと比較して非常に低く、このシリカゲル容器特有であることがわかった。また、新品のチャック付ポリ袋からは妨害物質は検出されなかった。従って、シリカゲル容器ラベルに含まれる妨害物質がチャック付ポリ袋や吸湿乾燥剤を汚染した可能性が考えられた。

表2 使用容器・試薬類の汚染状況

対象物質	妨害物質濃度 (ベンゾフェノン換算値)
シリカゲル容器	N.D.
容器の内蓋	N.D.
容器の外蓋	N.D.
容器ラベル	25.5
チャック付ポリ袋	0.048
吸湿乾燥剤	0.018
溶媒ビンラベル (他社製品)	0.660
チャック付ポリ袋 (新品)	N.D.

(濃度は対象物質1g中に含まれるµg)

### 3. 加温条件下におけるラベルからシリカゲルへの汚染

シリカゲル容器ラベルから妨害物質が揮散し、シリカゲルが汚染される可能性が示唆されたため、まず、加温条件下におけるラベルからシリカゲルへの汚染を検討した。シリカゲル容器ラベルとシリカゲル20gをそれぞれ別のピーカーに入れ、更にそれらを共栓付ガラス容器に入れ、60~80℃で24時間定温乾燥機に放置した。そして、シリカゲル5gをガラスSPEカートリッジに乾式充填し、20%アセトン-ヘキサン溶液20mLで溶出させ、妨害物質濃度を測定した。他社製品の試薬瓶のラベルについても同様の試験を行った。その結果、表3に示すように、各シリカゲルから妨害物質が検出され、特にシリカゲル容器ラベルと同封したシリカゲルに高濃度に含まれることがわかった。従って、シリカゲル容器ラベルに含まれる妨害物質が容器中のシリカゲルを汚染したと考えられた。

表3 シリカゲル汚染 (加温条件)

ラベルの種類 (ラベル重量)	シリカゲル5gから溶出させた 妨害物質濃度 (µg/mL)
シリカゲル容器 のラベル (0.86g)	4.51
他社溶媒ビン のラベル (1.05g)	0.119

#### 4. 常温条件下におけるシリカゲル汚染の経時変化

加温条件下では、シリカゲル容器ラベルからシリカゲルへ妨害物質が吸着することが認められたので、次に常温下におけるシリカゲルの汚染状況の経時変化を検討した。中央にシリカゲル容器ラベルを入れたピーカーを置き、その周囲にシリカゲルをそれぞれ5 g ずつ入れたピーカーを並べ、それらをチャック付ポリ袋に入れ、20℃の恒温室内に放置した。そして、3、7、14、21、28日後に1個ずつピーカーを取り出し、その中のシリカゲル5 g をガラス SPE カートリッジに乾式充填し、20%アセトン - ヘキサン溶液20 mL で溶出させ、妨害物質濃度を測定した。なお、シリカゲル容器の前面には製造メーカーであるV社のラベル(5 cm × 10 cm, 約0.46 g)、裏面には輸入販売元であるG社のラベル(5 cm × 9 cm, 約0.37 g)が貼付されている。いずれのラベルが原因であるか明らかにするため、それぞれのラベルについて検討を行った。その結果、図1に示すように、G社のラベルからシリカゲルへの汚染は経時的に進行することがわかった。また、G社のラベルと比較してV社のラベルからのシリカゲル汚染の程度は低いことがわかった。従って、シリカゲル容器をチャック付ポリ袋やデシケータ中に入れ、気密状態に保存することによって汚染の進行は促進されると考えられた。

他社製品の試薬ラベルや一般的に用いられるラベルからの妨害物質溶出は低く、他の紙材質からも検出されなかった。ベンゾフェノン誘導体は紫外線吸収剤などの使用例があり、ラベルの粘着剤や印字部分に含有される可能性がある。しかし、ベンゾフェノンそのものはラベルに対して使用報告がほとんどなく、その使用目的を明らかにすることはできなかったが、ベンゾフェノン誘導体の分解物としてベンゾフェノン汚染が引き起こされた可能性が示唆された。

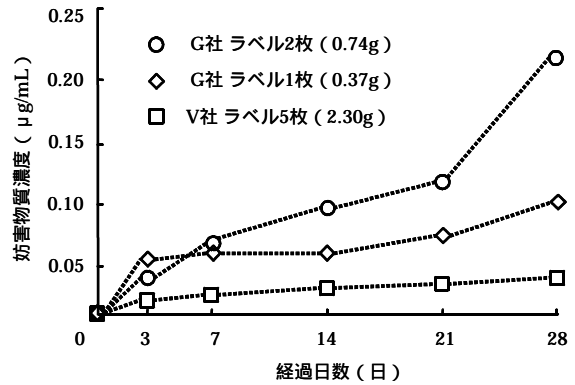


図1 シリカゲル汚染の経時変化(常温条件)

#### まとめ

GC/MS 分析する際、ベンゾフェノンの保持時間に見られる妨害物質は、分析目的物質であるベンゾフェノン自体である可能性が高い。さらにその汚染源は、分析用シリカゲルの容器に貼付されているG社のラベルであり、常温下であっても経時的にラベルからシリカゲルに吸着することがわかった。

#### 参考文献

- 1) 環境庁水質保全局：外因性内分泌攪乱化学物質暫定マニュアル，-1 - -8 (1998)
- 2) 田崎和子，他：京都市衛生公害研究所年報，No.69，142-144 (2003)