

トリメチルシリル誘導体化ガスクロマトグラフィー/質量分析法による空气中ビスフェノールAの分析

瀬戸 博*, 斎藤 育江*, 大貫 文*, 上原 眞一*, 藤井 孝*

Determination of Bisphenol A in Air by Gas Chromatography - Mass Spectrometry as Trimethylsilyl Derivative

Hiroshi SETO*, Ikue SAITO*, Aya ONUKI*, Shin-ichi UEHARA* and Takashi FUJII*

An analytical method was developed to determine bisphenol A (BPA) in air using gas chromatography - mass spectrometry after trimethylsilyl (TMS) derivatization. Separation efficiencies such as the theoretical plate number of the capillary column for BPA have been improved remarkably by TMS derivatization. When airborne BPA was sampled through quartz (front) and ODS (rear) filters, BPA was captured as particles on the quartz filter. No breakthrough of BPA occurred even if air was sampled at 14.4m³ (10 L per minute for 24 h). The recovery of BPA from the quartz filter was 85.6% on average. The quantitative limit of BPA in air was 0.07 ng/m³. The concentration of BPA in the outdoor air was measured as 0.42 ng/m³. On the other hand, BPA concentrations in the indoor air ranged from 1.19 to 1.85 ng/m³, showing higher levels compared with that of the outdoor air.

Keywords: ビスフェノール A bisphenol A, 室内空気 indoor air, 内分泌かく乱化学物質 endocrine disrupter, トリメチルシリル化 trimethylsilylation, 誘導体化 derivatization, ガスクロマトグラフィー/質量分析法 gas chromatography / mass spectrometry

はじめに

ビスフェノールA (4,4'-isopropylidene diphenol, 以下BPAと略す)は主としてポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂の原料として我が国では年間約44万トン(1999年)が使用されている¹⁾。

BPAはヒト乳ガン由来細胞(MCF-7)を用いた試験によりエストロゲン様活性を示すことが報告されている²⁾。また、BPAを投与されたマウスで前立腺重量の増加³⁾や卵巣摘出したラットで子宮及び膈の細胞増殖⁴⁾が認められている。BPAは環境省(旧環境庁)がリストアップした「内分泌攪乱作用を有すると疑われる化学物質」の一つに挙げられている⁵⁾。

BPAの人体への摂取に関連する調査としては食器⁶⁾、缶コーティング面⁷⁾、容器包装⁸⁾等からの溶出試験や水道水⁹⁾、地下水¹⁰⁾、下水¹¹⁾の水質調査が行われている。一方、大気や室内空気の汚染実態については報告が少なく^{12), 13)}、空气中にどの程度分布しているのかを把握する必要がある。しかし、空气中BPAの測定法は十分に確立されているとはいえないのが現状である。そこで、本研究ではトリメチルシリル誘導体化法(以下TMS誘導体化法と略す, Fig. 1)による空气中BPAの測定上の問題点の検討を行い、分析法を確立することとした。また、実際の空気試料の

BPA濃度測定を行ったので報告する。

実験材料及び方法

1. 試薬 BPA: 関東化学(株)製試薬特級, *N, O*-Bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (以下BSTFAと略す): PIERCE CHEMICAL COMPANY製, Fluoranthene-d₁₀: C/D/N Isotope製, アセトン: 和光純薬工業(株)製, 残留農薬・PCB試験用。

BPA標準液: BPA 50 mgを秤量し, アセトンに溶かし, 全量を50 mLとしたものを標準原液(1 mg/mL)とした。この標準原液を必要に応じてアセトンで希釈し, BPA標準液を調製した。

内部標準液: Fluoranthene-d₁₀標準試料10 mgを秤量し, アセトンに溶解し, 全量を100 mLとしたものを標準原液(0.1 mg/mL)とした。この標準原液を必要に応じてアセトンで希釈し, 内部標準液を調製した。

2. 捕集材及びフィルターホルダー 石英フィルター: 2500QAT-UP 47 mm径, 東京ダイレック(株)製, ODSフィルター: Empore™ DISK C18 FF 2215 47 mm径, 住友3M(株)製, フィルターホルダー: EMO-47, GLサイエンス(株)製。

3. 器具およびフィルターの前処理 使用する直前にフィルターホルダーおよび器具をアセトンに浸し, 10分間超音

* 東京都立衛生研究所環境保健部環境衛生研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

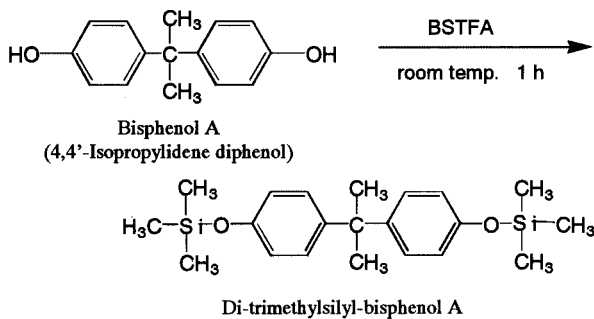


Fig. 1. Reaction Scheme

Reaction occurs at room temperature to form a BPA-TMS derivative

波洗浄した。また、石英フィルターは電気炉で400℃、3時間加熱処理をし、ODSフィルターはアセトンに一晩浸し、洗浄した。処理したフィルターは使用前までシャーレに入れ、活性炭の入ったデシケーター内で保存した。

4. 装置 ガスクロマトグラフ 質量分析計 (GC/MS) : TRACE GC 2000 SERIES/VOYAGER GC/MS, サーモクエスト製, オートサンブラ: AS2000, サーモクエスト製, ポンプ: AIR PUMP SIP-32L, 柴田科学製, 積算流量計: DRY TEST GAS METER DC-2A, シナガワ製。

GC/MSの分析条件をTable 1に示す。

5. 試料の採取 前段に石英フィルターと後段にODSフィルターを重ねてフィルターホルダーにセットした。サンプリング装置の組立図をFig. 2に示した。ホルダーが床面

Table 1. GC/MS Conditions

Parameter	Setting
GC Column	Ultra-1 (0.20 mm i.d. × 12 m, df=0.33 μm)
Column Temp.	70 (2 min) 20 /min 250 (4 min)
Carrier gas	He (0.8 mL/min)
Injection Temp.	230
Injection Mode	Splitless (purge on time 1 min)
Injection Volume	1 μL
Ionization Mode	Electron Impact (EI)
e-Energy	70 eV
Source Temp.	200
Detector Voltage	350 V
Acquisition Type	SIM
Monitoring Ions	<i>m/z</i> 212 (Fluoranthene-d ₁₀) <i>m/z</i> 357 (BPA-TMS) <i>m/z</i> 372 (BPA-TMS)

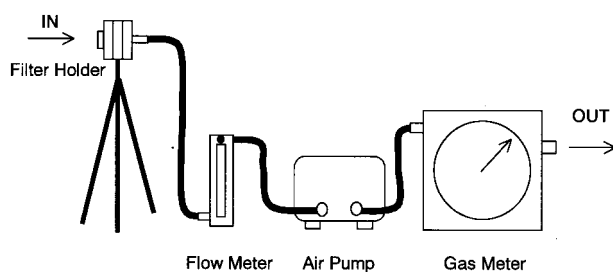


Fig. 2. Diagram of the Air Sampling System

より120~150 cmの高さになるように三脚を調整し、毎分10 Lの流速で試料空気を吸引採取し、これを分析用試料とした。

6. 分析操作 分析用試料を円筒状に丸めてそれぞれ別の共栓試験管に入れ、これに0.05 μg/mL Fluoranthene-d₁₀/acetone溶液10 mLを加え10分間超音波抽出を行った。遠心分離 (2500 rpm, 10分間) 後、上清を別の試験管にとり、そのうち5 mLを分取し窒素気流下で0.25 mLまで濃縮した。BSTFA 0.1 mLを加えてよく振り、室温で1時間TMS化を行った。この反応液1 μLをGC/MSに導入し分析を行った。

分析条件をTable 1に示す。

内部標準法により検液中BPA重量を求めた。空気中BPAの濃度は次式により計算した。

$$C = \frac{(A - Ab) \times Vc \times E / Ep \times 1000}{v \times V \times 298 / (273 + t) \times P / 1013}$$

C: 25における空気中のBPAの濃度 (ng/m³), A: GC/MSに注入した試料溶液中のBPA (ng), Ab: BPAのトラベルブランク値またはブランク値 (ng), Vc濃縮後の液量 (mL), E: 抽出液全量 (mL), Ep: 分取抽出量 (mL), v: GC/MSへの注入液量 (μl), V: ガスメーターで測定した空気捕集量 (m³), t: 空気採取時の平均気温 (°C), P: 空気採取時の平均大気圧 (hPa)

7. 実試料の採取 室内空気2ヶ所及び外気を対象にサンプリングを行った。捕集期間、測定場所及び内装仕様は以下の通りである。

捕集期間: 2000年10月初旬~12月下旬

測定場所: 東京都内A研究所B館 (築3年, SRC造り5階建て)。当ビルは勤務時間帯の午前8時から午後6時まで「オールフレッシュ換気システム」で空調されており、100%外気が取り込まれている。夜間休日の空調は停止している。

室内A: 3階機器室 (床: 塩化ビニル製シート, 壁: 化粧石膏ボード)

室内B: 3階研究室 (床: カーペット, 壁: 化粧石膏ボード)

外気: 屋上 (鉄筋コンクリート)

結果及び考察

1. トリメチルシリル (TMS) 誘導体化によるGC/MS BPAは低分子量ではあるが、水酸基が二つあるため極性が強くガスクロマトグラフ用カラムとの不規則な相互作用が懸念される。そこで、BSTFAによるTMS化を行うこととした。

1 μg/mL BPAと1 μg/mL Fluoranthene-d₁₀とのアセトン希釈混合液 (以下BPA希釈混合液と略す) 0.1 mLにBSTFA 0.1 mLを加えてよく振り、室温で1時間TMS化を行った。このTMS誘導体 (以下BPA-TMSと略す) 化した溶液とBPA希釈混合液とをGC/MSでそれぞれ分析した時のSIMクロマトグラムをFig. 3に示す。BPA-TMSの内部

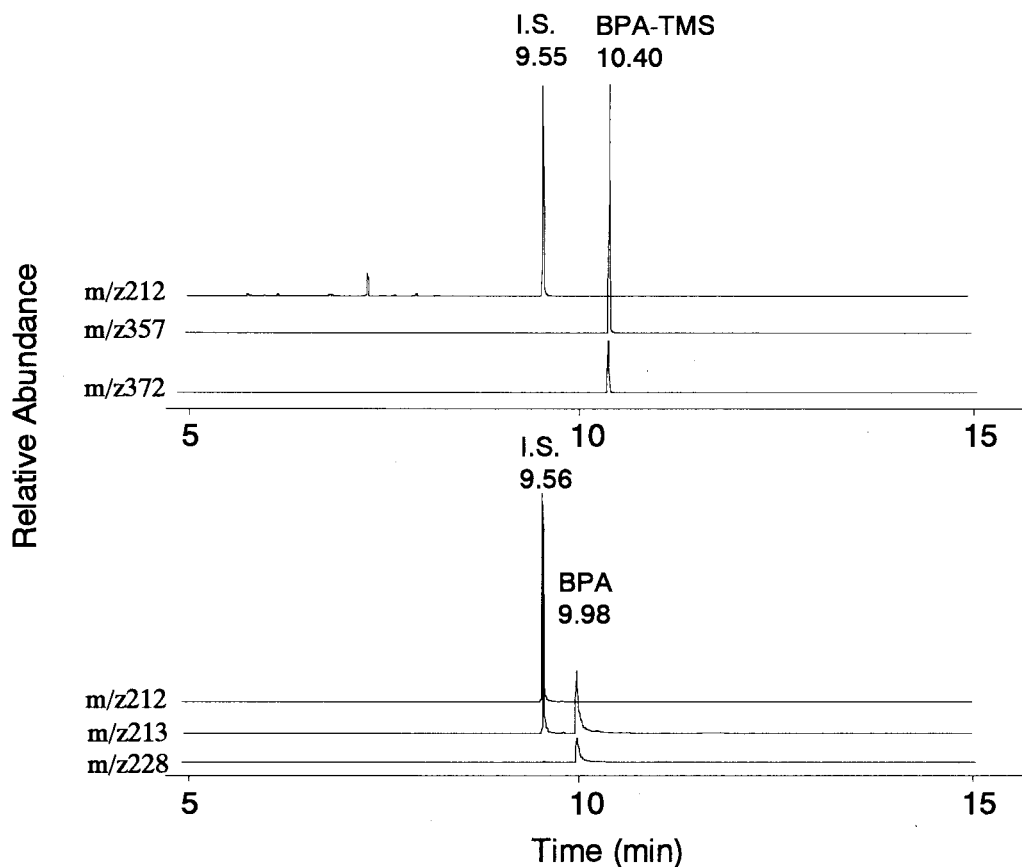


Fig. 3. SIM Chromatograms of BPA-TMS Derivative (upper) and BPA (lower)

Table 2. Comparison of Chromatographic Parameters

Parameter	Value	
	BPA	BPA-TMS
Theoretical plate (n)	124,000	828,000
Peak symmetry (As)	4.1	0.95
Partition ratio (k')	5.2	5.5
Partition coefficient (K)	780	819
Selectivity factor ()	1.0	1.1
Resolution (Rs)	3.0	15.0

Table 3. Detection Limit and Quantitation Limit

Filter No.	Concentration (ng/Air m ³)
1	0.049
2	0.043
3	0.057
4	0.050
5	0.038
Average	0.047
SD	0.007
DL(ng/Air m ³)	0.02
QL(ng/Air m ³)	0.07

DL: Detection limit, QL: Quantitation limit.

標準物質 (I.S.) に対するM⁺または (M-CH₃)⁺の相対イオン強度はBPAに比較して高かった。また、Table 2に示したクロマトグラムの比較における各パラメーターのうち分離性能を示す理論段数、対称性、分解能はBPA-TMSの方が格段に優れていた。TMS化反応は室温で1時間以内に完結することが確認された。

2. 検量線 Fluoranthene-d₁₀ 0.1 μg/mLを含む各濃度のBPA希釈標準液 (0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 μg/mL) 0.25 mLにBSTFA 0.1 mLをそれぞれ加えてよく振り、室温で1時間TMS化を行った。これをGC/MSで分析し、m/z 212 (Fluoranthene-d₁₀) に対するm/z 357 (BPA-TMS) の各ピーク面積の比 (ratio) を求めて検量線を作成した。

その結果、濃度に対するピーク面積比は2.0 μg/mLまで直線的に増加した (r=0.9998)。

3. 検出下限、定量下限 清浄にした両フィルターを用いて分析操作を行ったところ、BPAのブランク値が認めら

れたので、その値の変動から検出下限及び定量下限を求めた。なお、BPAは前段の石英フィルターに大部分が捕集されることから石英フィルターのみを対象とした。

石英フィルター5枚の各ブランク値から標準偏差を求めた。検出下限値 (DL) は、標準偏差の3倍、定量下限値 (QL) は10倍を溶液中での下限値としてそれぞれ算出した。さらに、この下限値を本測定法による空气中BPA濃度に換算した (採取空気量を14.4 m³とした)。

その結果をTable 3に示した。DLは0.02 ng/m³、QLは0.07 ng/m³であった。この汚染は主としてBSTFAに由来するものと考えられる。

4. 添加回収・破過試験 添加回収・破過試験はフィルターホルダーを2個連結し、前段のホルダーに石英フィルター (上流側) 及びODSフィルター各1枚を重ねてセット

Table 4. Recovery and Break-through of BPA on Each Filters

Test No.	Recovery (%)		Break-through (%)
	Quartz	ODS1	ODS2
1	85.73	0.00	0.00
2	81.33	0.13	0.00
3	82.51	0.00	0.00
4	84.12	0.00	0.00
5	94.21	0.00	0.00
Average	85.58	0.03	0.00
SD	5.10	0.06	0.00
CV(%)	5.96	-	-

BPA (500ng) was added to a quartz filter.

Volume of air passes through filters was 14.4 m³.

した。後段のホルダーには100 µg/mLのBPA/acetone希釈標準液 5 µLを添加 (500 ng) した石英フィルター 1枚 (上流側) とODSフィルター 2枚を重ね、サンプリング装置にセットした。毎分10 Lで室内空気を吸引し、24時間 (14.4 m³) 通気した。後段ホルダー内の各フィルターをそれぞれ別の試験管に入れ、BPAを分析した。

添加回収・破過試験の結果をTable 4に示した。石英フィルターでのBPAの回収率は平均85.6%、変動係数は6.0%であった。後段の1枚目のODSフィルターからはほとんど回収されなかった。また、2枚目のODSフィルターには破過しないことが確認された。なお、このときの室内空気の平均気温は25℃、平均湿度は50%であった。以上の結果から、空気中ではBPAは粒子状物質として存在していることがわかった。後段のODSフィルターは石英フィルターのバックアップとしての機能ばかりでなく、ガス状物質としてODSフィルターに捕集される他の物質、例えばフタル酸エステルや有機リン系農薬の一部を同時に測定する際に必要である。

5. 保存期間中におけるフィルターのBPA汚染 保存期間中におけるフィルターのブランク値の変化を調べた。浄化した石英フィルター及びODSフィルターを別のシャーレに入れ、活性炭の入ったデシケータ内で室温保存し、3日、7日、14日、21日経過した後に取り出してBPAを測定した。

その結果をTable 5に示す。石英フィルターのブランク値は前処理後徐々に増加していき、21日後には約1.7倍になった。一方、ODSフィルターは3日後に処理直後の2倍に増加したが、その後の変化はごくわずかであった。保存期間中のブランク値の増加は空気試料中濃度に換算すると石英フィルターで0.03 ng/m³、ODSフィルターで0.04 ng/m³と極めて低い値である。しかし、より精度を確保するためフィルターは使用する直前に前処理をするか、処理後速やかに試料採取をし、トラベルブランクで補正するのが適当と判断された。

6. BPA-TMS溶液の保存安定性 TMS誘導体化後のBPA-TMSがどの程度の期間安定して保存できるかを検討した。内部標準物質を含むBPA希釈混合液 (BPA, 1 µg/mL)

Table 5. Stability of Filter Blank Value During Preservation

Period Time (day)	BPA concentration in extract (ng/mL)	
	Quartz	ODS
	0	0.06
3	0.07	0.13
7	0.08	0.13
14	0.09	0.12
21	0.10	0.11

Time: The days after preparation.

Table 6. Stability of BPA-TMS Solution

Time (day)	BPA conc. (µg/mL)
0	1.00
3	1.08
7	1.02
14	1.10
21	0.87

The solution was stored in a refrigerator at 4℃.

をTMS化し、直後から4℃で3週間密栓して冷蔵保存しBPA-TMS濃度の経時変化を調べた。その結果、Table 6に示すように保存中の濃度変化は比較的わずかであったため、保存期限の目安は2週間以内と考えられた。

7. 実試料の測定 室内2ヶ所及び屋外で空気を採取しBPAを測定した。結果をTable 7に示す。室内Aについては2000年10月から12月にかけて5回のサンプリングを行った。そのうち3回については2重測定を行った。室内Aの空気中BPA濃度レベルは1.48 ng/m³から1.85 ng/m³で日間変動は少なくほぼ一定していた。また2重測定の差は3.2%から最大12.9%で微量物質の環境測定としては十分な精度と判断される。室内Bでは1.19 ng/m³でやや低く、両室間でわずかな差がみられた。これは部屋の備品、什器類や内装材が異なることなどが原因として考えられる。一方、外気中BPA濃度は0.42 ng/m³で室内空気に比較すると明らかに低濃度であった。

浦木¹²⁾は神奈川県における大気中BPA濃度をLC/MSにより測定している。一部の試料で検出された (0.65-1.37 ng/m³) がデータの多くは検出限界0.5 ng/m³以下 (定量下限値1 ng/m³) であった。また、今中ら¹³⁾は石英フィルター及びSDB-XD固相ディスクを用いてBPAを捕集し、BSTFAでTMS化後GC/MSで分析しているが、大気中のBPA濃度は定量下限値5 ng/m³以下であったと報告している。本法は定量下限値を著しく下げたことにより、大気試料についても十分適用可能となった。

BPAはポリカーボネートやエポキシ樹脂に含まれ、接触した液体中に溶出する。この例として先に述べた食器等からの溶出のほかに、埋め立て地 (廃プラスチック類) から滲出する液体にBPAが含まれることがあり、BPAの主要な環境汚染源との指摘¹⁴⁾がある。この現象は、樹脂内部のBPAが拡散により表面に移動し、界面を通して液体

Table 7. BPA Concentrations in Air Samples

Air sample		BPA concentration (ng/m ³)		
Location	Date	Sample No.1	Sample No.2	Mean
Indoor A	Oct. 3-4	1.83	-	1.83
	Nov. 20-21	1.48	-	1.48
	Nov. 29-30	1.65	1.74	1.70
	Dec. 12-13	1.52	1.73	1.63
	Dec. 20-21	1.82	1.88	1.85
Indoor B	Dec. 18-19	1.19	1.19	1.19
Outdoor	Dec. 25-26	0.40	0.44	0.42

- : Not determined.

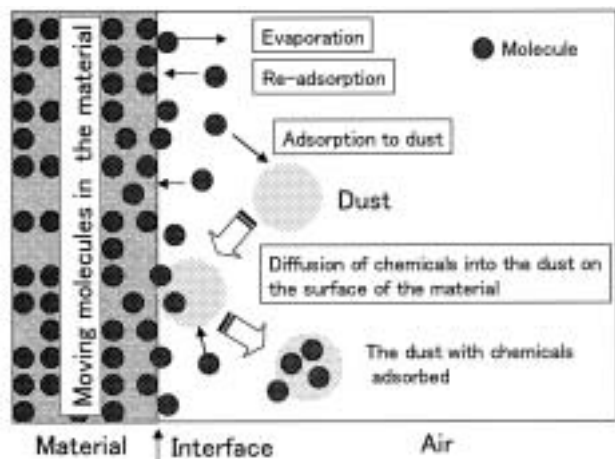


Fig. 4. Schematic Drawing of Exudation from Material and Evaporation of Low Volatile Chemicals into Air

中に移行するものでいわゆる拡散現象によって説明される。一方、空気中への放散についてはどのようなメカニズムによるのか、まだ定説は示されていない。著者らは、蒸気圧が極めて低い物質の空気中への放散が 1. 材料内部から表面への拡散による移動 2. ガス状分子の蒸発 3. 表面に付着した塵埃への吸着拡散 4. 空気中での塵埃の飛散の過程を経て起きることを提案した (Fig. 4)¹⁵⁾。BPAについても蒸気圧が 25°C で $4 \times 10^{-8} \text{ mmHg}^{16)}$ と極めて低いため、主として塵埃をキャリアーとして空気中に飛散しているものと考えられる。

まとめ

空気中のビスフェノールA (BPA) の分析法を作成し、実試料の測定を試み、下記の結果を得た。

1) BPAをTMS誘導体化後GC/MS測定することにより、キャピラリーカラムにおける分離が著しく向上した。

2) 石英及びODSフィルターを重ねて空気中BPAの捕集を行ったところ、BPAは粒子状物質として石英フィルターに捕集され、毎分10 Lで24時間空気を吸引しても破過しないことがわかった。

3) 石英フィルターからのBPAの添加回収率は平均85.6%であった。

4) 本法による空気中BPAの定量下限は 0.07 ng/m^3 であった。

5) 本法を適用して室内2カ所の空気中BPA濃度を測

定したところ 1.19 ng/m^3 及び $1.48 - 1.85 \text{ ng/m}^3$ であった。一方、外気濃度(1ヶ所)は 0.42 ng/m^3 で室内に比較して低濃度であった。

文 献

- 1) 化学工業年鑑, 2000年版, 175-176, 2000, 化学工業日報社, 東京.
- 2) Krishnan, A.V., Stathis, P., Permuth, S.F., *et al.*: *Endocrinology*, **132**, 2279-2286, 1993.
- 3) Nagel, S.C., vom Saal, F.S., Thayer, K.A., *et al.*: *Environ. Health Perspect.*, **105**, 70-76, 1997.
- 4) Steinmetz, R., Mitchner, N.A., Grant, A., *et al.*: *Endocrinology*, **139**, 2741-2747, 1998.
- 5) 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 - 環境ホルモン戦略計画SPEED'98 - , 2000年11月, 環境庁.
- 6) 河村葉子, 小谷野有紀, 武田由比子, 他: 食衛誌, **39**, 206-212, 1998.
- 7) 河村葉子, 佐野比呂美, 山田 隆: 食衛誌, **40**, 158-165, 1999.
- 8) 船山恵一, 渡辺悠二, 金子令子, 他: 東京衛研年報, **50**, 202-207, 1999.
- 9) 平成11年度水道水等の内分泌かく乱化学物質に関する実態調査結果(平成12年6月27日) 東京都水道局.
- 10) 平成11年度飲用井戸水等の内分泌かく乱化学物質に関する実態調査結果(平成12年6月27日) 東京都衛生局.
- 11) 平成11年度下水道における内分泌かく乱化学物質の実態調査結果(平成12年6月27日) 下水道局.
- 12) 浦木陽子: 第41回大気環境学会年会, 422, 2000.
- 13) 今中努志, 小川茂: 室内環境学会誌, **2**, 102-103, 1999.
- 14) Yamamoto, T., Yasuhara, A., Shiraishi, H., *et al.*: *Chemosphere*, **42**, 415-418, 2001.
- 15) 瀬戸 博, 斎藤育江, 大貫 文, 他: 第3回日本内分泌攪乱化学物質学会, 2000.
- 16) Neely, W.B., Blau, G.E.: *Environmental Exposure from Chemicals* Vol. 1, 30-32, 1985, CRC Press, Boca Raton, FL.