

[各支部での特別講演]

生体試料中の化学分析

岡 尚男

金城学院大学薬学部

key words : 内分泌かく乱化学物質, クロルデン関連物質, ヘキサクロロベンゼン

要 旨

内分泌かく乱化学物質（環境ホルモン）のうちクロルデン関連物質（trans-クロルデン, cis-クロルデン, trans-ノナクロル, cis-ノナクロル, オキシクロルデン, ヘプタクロルエポキサイド）およびヘキサクロロベンゼンの各化合物を生体試料中より分析した。分析方法としてガスクロマトグラフィー/質量分析法（GC/MS）を用いた。

はじめに

われわれは内分泌かく乱化学物質のうちクロルデン関連物質, ヘキサクロロベンゼンの分析法を開発した。また生体試料中のこれら化合物濃度測定を行った。

1 内分泌かく乱化学物質（環境ホルモン）

1990年代後半に、環境汚染物質が野生動物の生殖系に、異常発生を生じさせたことが相次いで報告された。たとえば有機スズ化合物によるバイ貝, イボニシ雌のインボセックス, DDT, DDEによる鳥類の産卵異常, PCBによるカワウソ, ミンクの繁殖激減, DDT, ジコホールによるワニのペニスの短小化, 精巣発育不全などである。これら環境汚染物質を内分泌かく乱化学物質と総称している。また環境ホルモンとも呼ばれている。人においても精子数の減少, 生殖器の発育不全, 乳癌, 子宮内膜症の増加などについて, 内分泌かく乱化学物質の影響が疑われている。

1997年, ホワイトハウス委員会, スミソニアン協会でシンポジウムがあり, 内分泌かく乱化学物質の定義がなされた。その後, わが国では1998年環境省が「内分泌かく乱作用が疑われる化学物質」として68種類を発表した。これらの多くは農薬である。

今回の分析対象化合物はクロルデン関連物質, ヘキサクロロベンゼンであり, これらについて以下に分析法を述べる。

2 生体試料中のクロルデン関連物質およびヘキサクロロベンゼンの分析

1) クロルデン関連物質

クロルデンはシロアリの駆除剤および防除剤として広く使用されていたが, 肝臓障害などの慢性毒性が認められたことから, わが国では1986年より使用禁止となった。しかし遅効性殺虫剤であるクロルデンの残留性は強く, 最近の調査でも環境中にクロルデン関連物質の残留が認められている。

このクロルデン関連物質は, 内分泌かく乱化学物質として掲げられている。野菜, 肉, 牛乳には残留していないが, 河と海の混ざる領域の魚に残留している。

クロルデン関連物質は6種類あり, trans-クロルデン, cis-クロルデンが主であり, trans-ノナクロル, cis-ノナクロルは不純物として, またオキシクロルデン, ヘプタクロルエポキサイドがある。

2) ヘキサクロロベンゼン

一方、ヘキサクロロベンゼンの分子量は282である。この化合物は海外では殺虫剤として使用されているが、わが国では農薬登録はなされていない。しかしクロルデンなどと同様に、環境中に存在していることが明らかとなっている。その理由として、これが塩素系化合物の製造原料中に、あるいは塩素系農薬の不純物に由来するためと推測されている。ヘキサクロロベンゼンも内分泌かく乱化学物質の一つとしてあげられている。クロルデン関連物質は塩素が6~8個、ヘキサクロロベンゼンも塩素が6個存在しているのが特徴であり、この点が後述する分析同定にとって重要となる。

3) 分析法

分析法に求められる条件として、①多成分同時分析が可能であること、②高感度分析が可能であること、③同定確認が可能であること、④汎用の装置で分析が可能なること、などがあげられる。

分析対象試料としては水・空気・土壌などの環境試料、穀物・野菜・果実・食肉・魚介類・飲料水などの飲食物、血液・尿・糞便・体液・脂肪などの生体試料がある。現在は血液試料を中心に分析している。

われわれは高感度分析としてガスクロマトグラフィー/質量分析法(GC/MS)を用いた。この方法は非常に選択性が高い。

まず前処理として、血清約3 mLのヘキサン抽出層をセパパックカラムにかけ、その溶出液2 μ LをGC/MS分析に用いた。内部標準物質として1-クロロテトラデカンを用いた。GC/MSは日本電子社製JMS AX-505 Wであり、カラムはクロムパックCP-Sil 5 CB-MSを用いた。カラム温度は80°Cで2分間保持し、230°Cまで毎分15°Cで昇温する。その後300°C

まで毎分20°Cで昇温後、300°Cで10分間保持した。検出は選択イオン検出法(SIM)を用いた。

その結果、1回の試料分析で、13分以内に1-クロロテトラデカン、ヘキサクロロベンゼン、ヘプタクロルエポキサイド、オキシクロルデン、trans-クロルデン、cis-クロルデン、trans-ノナクロル、cis-ノナクロルが同時分析可能となる良好な条件となった。またブランクの人血清のSIMプロファイルにもクロルデン関連物質が含まれていた。

4) 人血清添加回収実験結果および定量限界

10 ppbレベルの添加量によってこの分析法における平均回収率は80%以上、変動係数は4.6%以下と良好な結果が得られた。定量限界は人血清で0.02~0.2 ppb、母乳(牛乳)脂肪で0.1~1 ppbであった。

5) 人血清中の分析

人血清中に検出されたクロルデン関連物質およびヘキサクロロベンゼンについて、同位体存在比による同定を試みたところ、これらの化合物を良好に同定することができた。

まとめ

内分泌かく乱化学物質の内、クロルデン関連物質、ヘキサクロロベンゼンを生体内試料中から分析、同定した。測定方法はガスクロマトグラフィー/質量分析法(GC/MS)を用いた。またこれら化学物質の分析の困難性と対策を述べた。

(平成17年11月27日
名古屋市「愛知県透析医会研修会講演会」)