

エストラジオール(添加回収試験) Water recovery test of estradiols

水道水質基準の要検討項目(令和3年4月1日適用)では、エチニルエストラジオール(17 α -Ethinylestradiol, EE2)及び17- β -エストラジオール(17- β -Estradiol, E2)の基準値が暫定として0.02 μ g/L及び0.08 μ g/Lとされています。ここでは、水道水への添加回収試験を行いました。回収率の算出はマトリックス添加の標準試料を用い、2点の平均値としました。また、マトリックス添加の標準試料5 μ g/Lを用い、ESIとAPCIの検出感度を比較しました。

Key words : L-column3 アンモニア 溶離液 LC-MS/MS 内分泌かく乱物質
Column : USP category: L1

[Analytical conditions]

Column : L-column3 C18 (2 μ m, 12 nm); 2.1 mm I.D. $\times$ 50 mm L.; Cat. No. 813140
Eluent : A: CH₃OH; B: 0.1% HCOOH in H₂O (APCI) or 5 mmol/L NH₃ in H₂O (ESI)
A/B, 10/90(0-0.5 min)-90/10(5-7 min)
Flow rate : 0.4 mL/min
Temperature : 40°C
Detection : APCI-MS/MS(+), ESI-MS/MS(-)
Injection volume : 10 μ L
System : LC: Ultimate 3000 Bio RS (Thermo Fisher Scientific K.K.); MS/MS: 3200 QTRAP (SCIEX)
Sample : 5 μ g/L (each)

○前処理

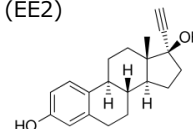
水道水250 mL

- 標準溶液1 mg/Lを5 μ L添加
- Sep-pack C18 通液
- 洗浄 水/アセトニトリル(9/1) 5 mL
- 溶出 アセトニトリル 850 μ L
- 定容 アセトニトリル 1 mL

LC-MS/MS試料

コンディショニング
アセトニトリル 10 mL
イオン交換水 10 mL

17 α -Ethinylestradiol (EE2)
エチニルエストラジオール
 m/z 295.1 $\rightarrow$ 145.1



17- β - Estradiol (E2)
17- β -エストラジオール
 m/z 271.8 $\rightarrow$ 144.0

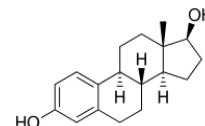


Table 1 Result of water recovery test.

Component Name	Ionization Mode	S/N	CV※1	MF※2
EE2	APCI +	12	12 %	86 %
	ESI -	92	5 %	83 %
E2	APCI +	7	20 %	83 %
	ESI -	89	3 %	83 %
(ESI)	Recovery Rate	LOQ (ng/L)	Calibration Curve	R ²
EE2	76%	2.1	4-80 ng/L	0.998
E2	85%	1.5	4-80 ng/L	0.998

※1 CV (%) = (5回連続分析中の分析対象物質のレスポンス標準偏差)/(5回連続分析中の分析対象物質のレスポンス平均値) $\times$ 100

※2 MF (%) = (マトリックス存在下での分析対象物質のレスポンス)/(マトリックス非存在下での分析対象物質のレスポンス) $\times$ 100

水道水マトリックスにおいて、アンモニア溶離液を用いたESIメソッドはAPCIと比較し大幅に検出感度を増加することができました。また、分析間のCVが小さく、マトリックスファクター(Matrix factor, MF)もAPCIと同程度でした。エストラジオールは分析感度が低く、1 Lの試験水を1000~10000倍濃縮するため、非常に複雑な前処理を行う必要があります。本法では水回収試験の回収率は、70%以上かつ2点間の誤差も10%以内に収めることができ、より簡便な前処理による測定が可能となりました。

OGT 70th MS(2022)

エストラジオール(血清マトリックス) Estradiols(Serum matrix)

エストラジオールは性ホルモンとして体内に存在し、妊娠や疾患等のマーカーとしても知られております。ここでは血清マトリックスを用い、APCI及びESIにおける分析感度とマトリックスファクターを調査しました。サンプルは以下の前処理により作成した血清マトリックスを希釈溶媒として使用し、アセトニトリルで調製した標準溶液と比較しました。このとき、試料の濃度を1 mg/L、注入量を1 μ Lとしました。検量線は最終濃度が1, 10, 50, 100 μ g/Lとなるように添加標準溶液の濃度を調整し作成した。注入量は10 μ Lとした。

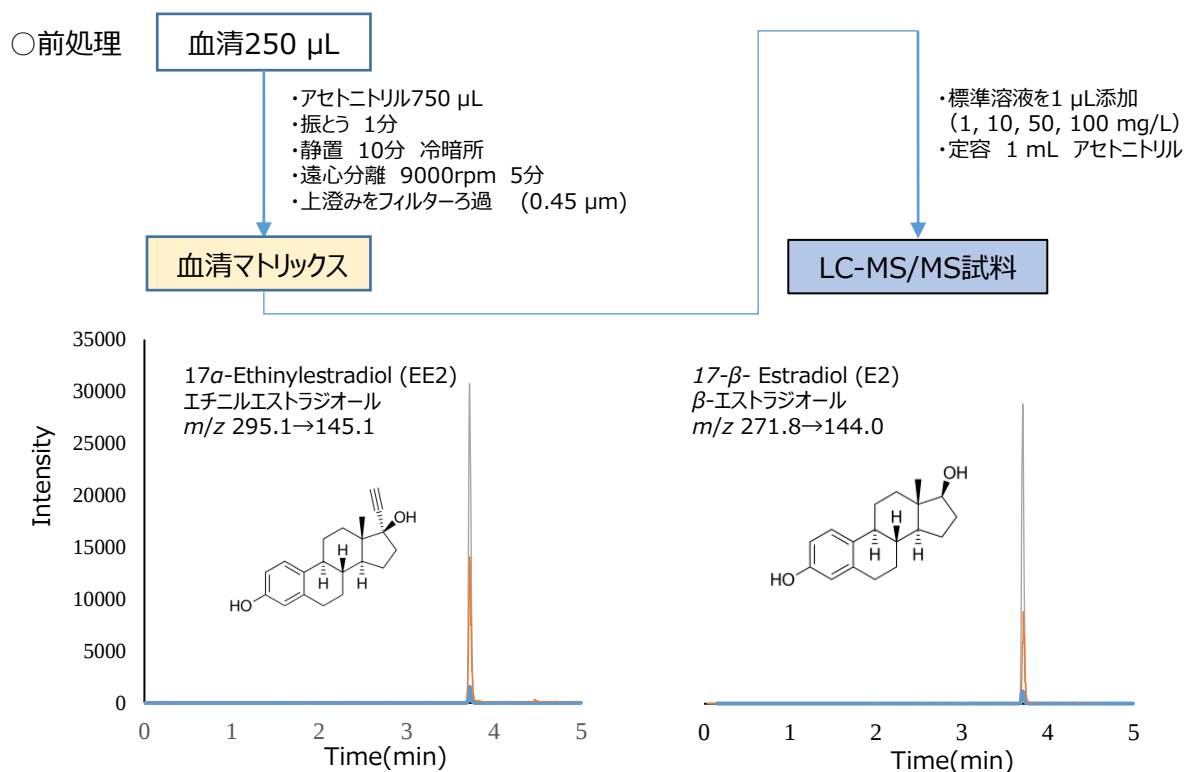


Fig. 1 Chromatograms of analysis for estradiols (matrix of normal rat serum).

Table 2 Result of analysis for estradiols in normal rat serum.

Ionization Mode	Component Name	S/N	CV※1	MF※2	Calibration curve	R ²
ESI(-)	EE2	4495	7 %	98 %	1-100 μ g/L	0.999
	E2	4211	4 %	97 %	1-100 μ g/L	0.999
APCI (+)	EE2	669	2 %	100 %		
	E2	392	10 %	114 %		
APCI(-)	EE2	180	12 %	111 %		
	E2	186	8 %	118 %		

ESIはAPCIに比べ高感度で分析が可能であり、分析間の誤差やマトリックスファクターを軽減することができました。水マトリックス及び血清マトリックスにおいて、アンモニア溶離液を用いたESIメソッドはAPCIよりも優れた結果を示しました。

OGT 70th MS(2022)