

# 四重極型LC-MS/MSを用いたエストロゲン類の分析

サーモエレクトロン株式会社 C&MS 応用技術部  
編集発行：サーモエレクトロン株式会社 マーケティング部

LCMS06007

## Key Words

- LC-MS/MS
- SRM
- エストロゲン
- エストラジオール

## はじめに

現在、人畜由来であるエストロン、17β-エストラジオール、エチニルエストラジオールが水中に生息する生物のホルモン作用を攪乱することが懸念されています。これらは、女性ステロイドホルモンとして知られているエストロゲンの代表的なものであり、その中でも17β-エストラジオールは最も生理活性が高く、問題視されています。これら物質は、河川及び下水の実態調査の測定項目となっており、水道水基準では、要検討項目の一つに含まれています。ここでは上記の3種類のエストロゲン物質について、四重極型LC-MS/MSで測定した結果についてご紹介します。GC-MSを用いた測定では、前処理として誘導体化が不可欠ですが、LC-MSを用いることで、煩雑な誘導体化を行わずに高感度な測定が可能です。

## 分析条件

### HPLC : prominence (SHIMADZU)

カラム : BetaMax Neutral 150 x 2.1 mm, 5 μm  
移動相 A : 水  
移動相 B : アセトニトリル  
グラジエント : 水/アセトニトリル=30/70 (アイソクラティック)  
注入量 : 10 μl  
流速 : 0.2 ml/min  
カラム温度 : 室温

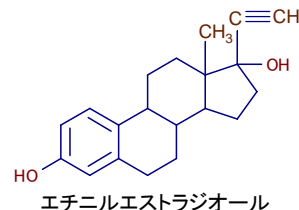
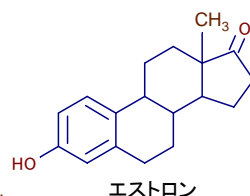
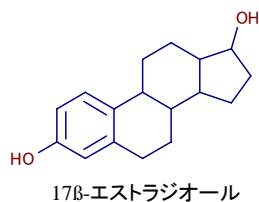
### MS : TSQ Quantum Discovery MAX

イオン化法 : Negative ESI  
スプレー電圧 : 4250 V  
シーガス : 35  
AUXガス : 15  
キャピラリー温度 : 370 °C  
ソースCID : 7 V

### SRM条件

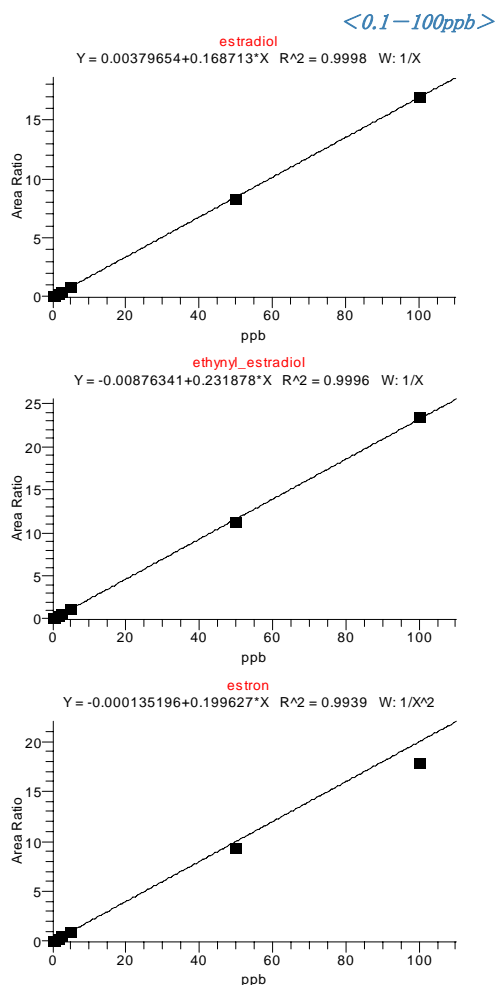
271 → 145 @ 42 V (17β-エストラジオール)  
274 → 185 @ 42 V (17β-エストラジオール-d3)  
269 → 145 @ 38 V (エストロン)  
271 → 145 @ 42 V (エストロン-d2)  
295 → 145 @ 40 V (エチニルエストラジオール)  
299 → 147 @ 40 V (エチニルエストラジオール-d4)

## 構造



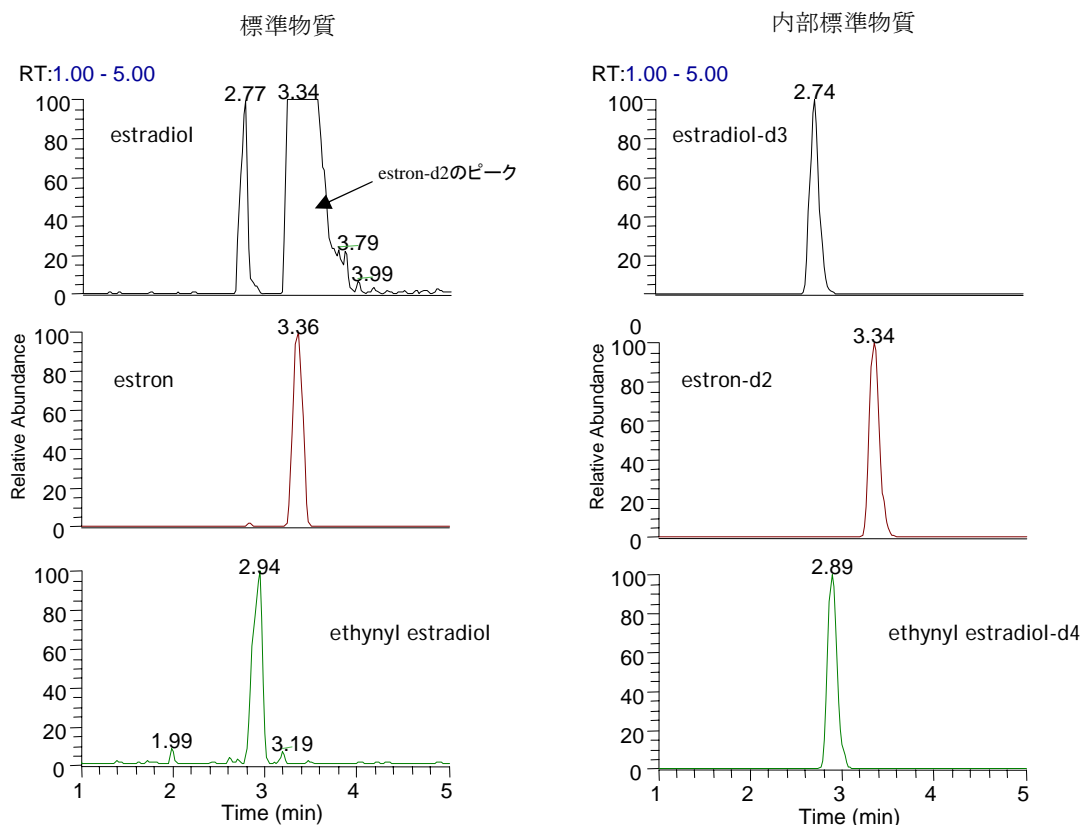
## 結果：標準液を用いた検量線の直線性

3種混合標準液を0.1-100 ppbに調製し、測定を行いました。3種とも良好な直線性が得られました。



## 標準試料(左図)と内標準物質(右図)のSRMクロマトグラム

ここでは例として、0.1 ppbの標準試料のSRMクロマトグラムを示しています。



標準物質について0.1 ppbで良好な感度を得ることができました。公定法では、GC-MS法及びELISA法が採用されていますが、GC-MS法では誘導体化が必要であり、前処理に問題があります。また、ELISA法では、選択性の低さから環境中濃度が

実際より高くなる傾向があり、定量性に問題があります。今回の測定より、LC-MS/MSを用いることで、水道水基準で目標検出下限値として定められている濃度以下でも測定が可能であることを確認できました。

### 再現性について

1.5 ppbの標準試料で5回繰り返し測定した結果を示しています。3種類の化合物ともCV値で10%以下の良好な再現性が得られています。

| Target Comp  | Area   | Area ISTD | Area Ratio | Calc.Amt | CV(%) |
|--------------|--------|-----------|------------|----------|-------|
| エストラジオール     | 95223  | 331954    | 0.287      | 1.678    | 6.91  |
|              | 94757  | 319426    | 0.297      | 1.736    |       |
|              | 88029  | 326862    | 0.269      | 1.574    |       |
|              | 83953  | 323507    | 0.260      | 1.516    |       |
|              | 81072  | 321557    | 0.252      | 1.472    |       |
| エチニルエストラジオール | 54028  | 164887    | 0.328      | 1.451    | 4.58  |
|              | 58781  | 161750    | 0.363      | 1.605    |       |
|              | 50718  | 151128    | 0.336      | 1.485    |       |
|              | 47756  | 142462    | 0.335      | 1.483    |       |
|              | 49714  | 154202    | 0.332      | 1.428    |       |
| エストロン        | 392078 | 1279511   | 0.306      | 1.536    | 3.08  |
|              | 399961 | 1221223   | 0.328      | 1.641    |       |
|              | 387876 | 1229758   | 0.315      | 1.581    |       |
|              | 378450 | 1226706   | 0.309      | 1.546    |       |
|              | 375738 | 1238912   | 0.303      | 1.52     |       |

### おわりに

Thermo Electron社製 四重極型LC-MS/MSシステム TSQ Quantum Discovery MAXを用いることで、エストロン、17β-エストラジオール、エチニルエストラジオールを0.1-100 ppbの濃度範囲において、感度、精度とも良好に定量が可能でした。

LCMS06007

サーモエレクトロン株式会社

C&MS 営業本部  
応用技術部

横浜本社  
045-453-9192

大阪支店  
06-6863-1551

E-mail  
info-jp@thermo.com

www.thermoelectron.jp  
(日本)  
www.thermo.com  
(グローバル)

©2005 Thermo Electron Corporation. All trademarks are the property of Thermo Electron Corporation and its subsidiaries.

Specification, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.

**Thermo**  
ELECTRON CORPORATION