

## GC - ECD を用いた甲状腺ホルモンのスクリーニング法の検討

西川 徹 ・ 馬場 強三

## The Screening Analytical Method of Thyroid Hormone using GC-ECD

Toru NISHIKAWA, and Tsuyomi BABA

Recently, the health injury by dietary health foods is reported, and the medical supplies (sibtramine, fenfluramine, nitroso-fenfluramine, thyroid hormone, etc) is being detected in the health foods.

Although triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) are contained in thyroid gland powder, and they exist as a globulin conjugation, it is difficult to analyze T3 and T4 directly. Therefore, although the present analytical method by LC/MS or HPLC is necessary to liberate thyroid hormone from thyroglobulin, analysis of thyroid gland powder by this method takes time and effort.

Then, we investigated screening analytical method of thyroid gland powder by GC-ECD. The thyroid gland powder was incinerated under alkali existence. 3-pentanone was added to aqueous solution, and the reaction product was extracted in the hexane, and it was determined by GC-ECD. By this method, it was able to be determined quantitatively within 0.01~0.1 µg as an iodine, and the recoveries of T4 were the range of 75 ~ 81% in each sample (tablets, granulated powders, capsules). This method can be applied for analysis of thyroid gland powder.

Key words : health foods, thyroid hormone, iodine, GC-ECD, ashing

キーワード:健康食品、甲状腺ホルモン、ヨウ素、電子捕捉型検出器付ガスクロマトグラフィー、灰化

## はじめに

最近の健康食品ブームの中で、ダイエット効果を標榜した健康食品中に、医師の許可なしでは使用できない医薬品が含まれている事例が報告され、これらの健康食品の服用による健康被害が全国的な広がりを見せている。

健康食品中に含まれていた医薬品の事例のなかに乾燥甲状腺末があるが、この乾燥甲状腺は主成分としてトリヨードチロニン(T3と略す)及びチロキシシン(T4と略す)を含んでおり、これらは新陳代謝促進、体温上昇、体重減少などの生理活性を持ち、成長や発育に不可欠なホルモンである<sup>1)</sup>。甲状腺ホルモンの分析法としてはHPLC又はLC/MSによる方法が報告されているが<sup>2)</sup>、当所にはLC-MSが整備されていないため、LC-MS以外の方法で甲状腺ホルモンをスクリーニングする方法がないか検討した。そこで、図1に示すように甲状腺ホルモンがヨウ素を含むということから、GC-ECDによるヨウ素定量法<sup>3)</sup>を用いて健康食品中の甲状腺ホルモンをスクリーニングできないかを検討し、健康食品9検体についてスクリーニング調査を行ったので報告する。

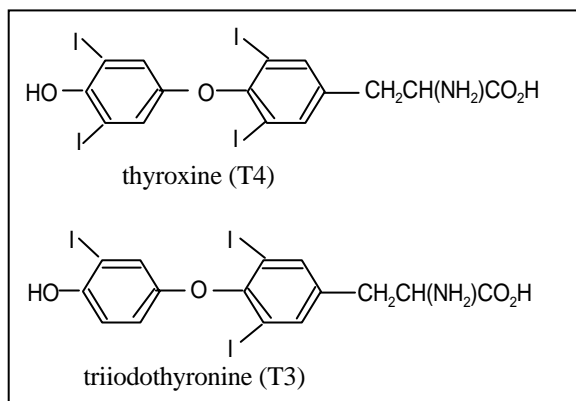


図1 T3、T4の構造

## 調査方法

## 1. 試料

長崎県内で流通している、ダイエット効果を標榜した健康食品9検体を用いた。なお健康食品の形状は錠剤6検体、顆粒剤1検体、カプセル剤2検体であり、錠剤は乳鉢で粉砕したものを、カプセル剤についてはカプセルの中身を試料とした。

## 2. 分析方法

図2に示す方法で行った。GC-ECDによるヨウ素定

量は、アルカリ存在下灰化し、灰化後にヨウ素を3-ペンタノンと反応させ、2-ヨード-3-ペンタノンにし、ECD-GC で測定した。また、乾燥甲状腺末では T3 と T4 が含まれており、回収試験ができないので、回収試験は錠剤、顆粒剤、カプセル剤各0.5gに T4 標準液を 10 μg 添加して行った。

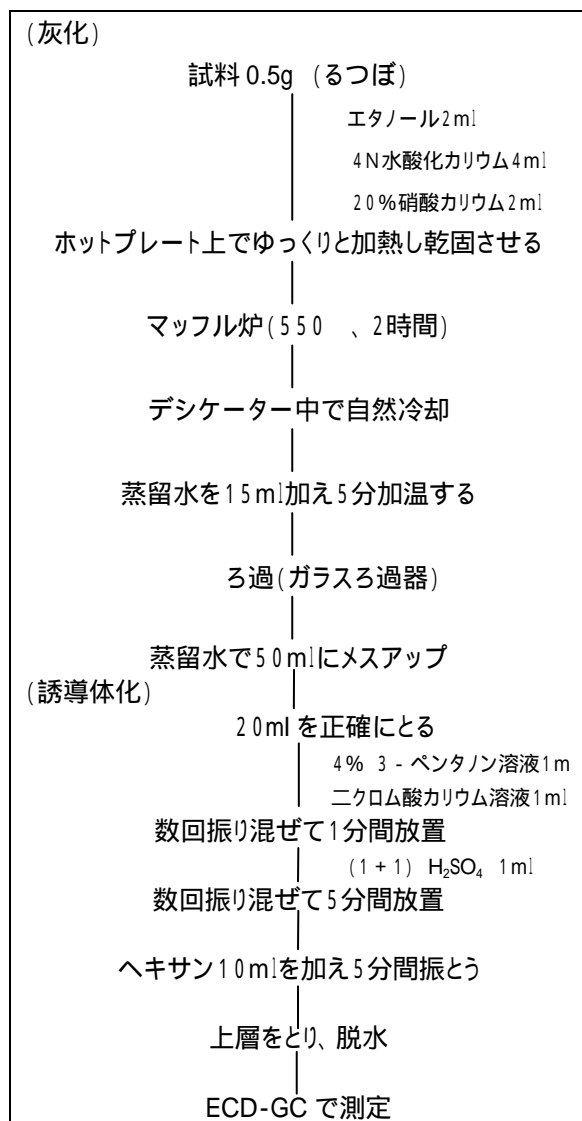


図2 分析方法

### 3. 検量線の作成

ヨウ化カリウム(特級) 131mg を精秤し、ヘキサン洗淨水で 100ml にメスアップしてヨウ素標準原液を調整する。この標準原液(ヨウ素として 1mg/ml)を希釈して 0.1 μg/ml の標準溶液を調整し、この溶液 1ml、5ml、10ml、を分液ロートにとり、ヘキサン洗淨水を加えて 20ml とし、図2に示した方法で誘導体化を行った。この試験溶液を ECD-GC で測定し、ピーク面積により検量線を作成した。

### 3. 分析機器

表1に示す条件で測定を行った。

表1 ECD-GC の測定条件

GC	島津製作所 GC - 14A
カラム	G-120 (1.2mm × 10m)
カラムオープン温度	70
注入口温度	200
検出器温度	300
試料注入量	1 μl

### 結果及び考察

#### 1. 検量線

調査方法の4. 検量線の作成の項に記した方法で検量線を作成したところ、0.01 ~ 0.1 μg/ml の範囲で直線性を示した ( $R^2 = 0.9991$ )。

また、本法の検出下限値は 0.05 μg/g であった。

#### 2. 回収試験

実試料に対して本試験法によりスクリーニングが可能かどうかを確認するため、錠剤、顆粒剤、カプセル剤に T4 標準液を 10 μg 添加し、添加回収試験を行った。回収率は、図3に示すように各試料で 75 ~ 81% と良好な結果が得られた。

そのクロマトグラフは図4に示すとおりで、ヨウ素によるピークを妨害するピークはなく、T4 標準液を加えていない試料からもヨウ素によるピークを妨害するピークは検出されなかった。

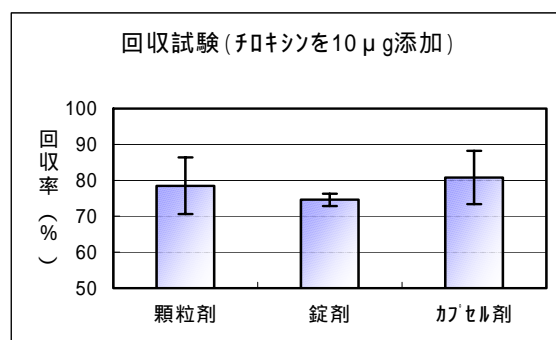


図3 各試料での回収率(n=3)

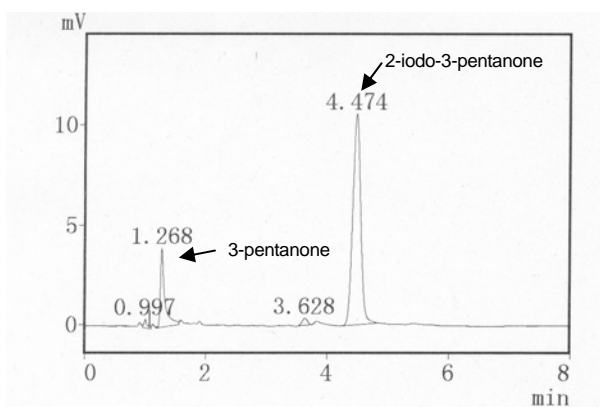


図4 錠剤粉末にチロキシンを添加した時のクロマトグラフ

### 3. 健康食品のスクリーニング結果

長崎県内で流通している、ダイエット効果を標榜した健康食品9検体について本試験法により甲状腺ホルモンのスクリーニング調査を行った。その結果、カプセル剤の一つから約35  $\mu\text{g/g}$  のヨウ素が検出された以外はすべて1  $\mu\text{g/g}$  以下であった。(表2) また、ヨウ素が検出されたカプセル剤の成分表示にはヨウ素が含まれている化合物は見当たらなかった。

そこで、検出されたヨウ素が甲状腺ホルモンに由来するものかどうかの検討を行った。ヨウ素が検出された検体、T4標準及び乾燥甲状腺末について、水、エタノール、塩酸溶液、水酸化ナトリウム溶液への溶解度を調べた。試験方法として、試料を遠沈管にとり、それぞれに水・エタノール・酸・アルカリを加え、超音波により溶かし、遠心分離した。遠心後、上清をとり図2の方法で分析を行った。その結果は表3に示すように、ヨウ素が検出された検体の各溶液での溶出状況とT4標準及び甲状腺粉末の溶出状況は異なった。このことから、今回カプセル剤の一つから検出されたヨウ素は、甲状腺ホルモン由来ではなく、食品由来のものと考えられる。

表2 健康食品中のヨウ素含量

試料	検体数	ヨウ素含量 ( $\mu\text{g/g}$ )
錠剤	6	<0.05、<0.05、0.43、0.70、0.60、0.43
顆粒剤	1	0.34
カプセル剤	2	0.2、 <u>35</u>

また、今まで LC-MS などで甲状腺ホルモンが確認された検体中濃度は20~90  $\mu\text{g/g}$ で、医薬品として使用されるのは25  $\mu\text{g/日}$ 以上であることから、ヨウ素が微量検出(<1  $\mu\text{g/g}$ )されたものについては、他の成分由来の

ものと思われる。

表3 各溶液でのヨウ素化合物の溶出状況(%)

溶液の種類	* 検体	T4	甲状腺末
水	28.9	4.3	0
エタノール	13.6	44.4	0
0.1N 塩酸	21.8	6.9	5.2
0.1N NaOH	36.0	77.8	19.4

\* ヨウ素が高濃度で検出されたサンプル

### まとめ

今回検討した甲状腺ホルモンをマッフル炉で灰化してヨウ素を遊離させ、3-ペンタノンと酸性条件下で反応させてECD-GCで測定する方法は、回収率も良好であり、健康食品中の甲状腺ホルモンのスクリーニング法として使用できることが示された。本試験法は操作が容易であるため多くの検体を処理できる、ヨウ素と3-ペンタノンとの反応により生成するモノイオドケトン強い電子親和性をもつため微量の甲状腺ホルモンもスクリーニングできるなどのメリットもある。

また、試料を水や酸、アルコールやアルカリに溶かして検査することで、検出されたヨウ素が甲状腺ホルモン由来か食品由来かを判断することも可能であった。

### 参考文献

- 1) 第十四改正日本薬局方解説書, 廣川書店, C-3236~C-3241(2001)
- 2) 浜田洋彦, 小坂妙子: 宮崎県衛生環境研究所年報, 11, 83~88(2000)
- 3) TAKAO MITSUHASHI and YOSHIO KANEDA: Gas Chromatographic Determination of Total Iodine in Foods, J.Assoc.off.Anal.Chem.73(5),790-792(1990)