

【研究報告】

水酸化 PCBs (OH-PCBs) 分析における効果的な誘導体化方法

The Highly Effective Methylation Method for Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls

松本幸一郎、井関直政*、亀田洋、鹿島勇治、塩崎卓哉

Koichiro MATSUMOTO, Naomasa ISEKI*, Hiroshi KAMEDA, Yuji KASHIMA
and Takuya SHIOZAKI

【要約】 OH-PCBs は GC キャピラリーカラムの液相に対して強い吸着を示すため、高感度で分析するためには誘導体化が必要となる。そこで、硫酸ジメチル、炭酸ジメチル、ジアゾメタン、TMS-ジアゾメタンを用いたメチルエーテル化による誘導体化効率および安定性の評価を行った。OH-PCBs を誘導体化した MeO-PCBs を GC/MS で測定し、内標準物質との比から得た回帰直線から誘導体化効率を比較した。その結果、本条件下では OH-HxCB を除いて、硫酸ジメチル > TMS-ジアゾメタン > ジアゾメタンの順に誘導体化効率は高く、炭酸ジメチルでは誘導体化が起こらなかった。また、決定係数 (R^2) から評価した安定性は TMS-ジアゾメタン > 硫酸ジメチル > ジアゾメタンの順に示された。これらの結果から、本研究で使用した誘導体化剤では誘導体化効率および安定性から TMS-ジアゾメタンによる誘導体化が最も効果的であった。

キーワード：水酸化 PCB、OH-PCB、誘導体化、トリメチルシリルジアゾメタン、GC/MS

1. はじめに

Polychlorinated biphenyls (PCBs) は 1966 年に鳥類に蓄積していることがわかり¹⁾、その環境汚染が深刻な問題であるとの認識がなされ、製造、使用等が禁止された。しかしながら数十年経った現在でも PCBs はあらゆる環境媒体から検出されており、ヒトを含む生物および生物圏を広く汚染している。PCBs は生物体内に摂取されると一部は代謝されて水酸化物である Hydroxylated polychlorinated biphenyls (水酸化 PCBs: OH-PCBs) となる。OH-PCBs は魚類²⁾、鳥類³⁾、ほ乳類⁴⁾ およびヒト⁵⁾ などから検出されている。OH-PCBs は甲状腺ホルモン輸送タンパクである transthyretin (TTR) と高い結合親和性を有している⁶⁾ ため、血中の甲状腺ホルモンレベルを減少させる⁷⁾。また、estrogen sulfotransferase (EST) を強力に阻害する⁸⁾ ことによる影響などが懸念されている。

OH-PCBs の分析法として GC/MS、GC/ECD⁹⁾、LC/TOF¹⁰⁾、LC-ESI/MS¹¹⁾ を使用した方法が報告されている。特に GC を使用する場合、OH-PCBs

は極性を有することから他のフェノール系化合物と同様にキャピラリーカラムの液相に対して強い吸着を示すため、高感度で分析するためには誘導体化を行うことが必要である。

誘導体化方法として、アセチル化¹²⁾ やシリル化¹³⁾、メチルエーテル化¹⁴⁾ などが報告されており、中でも水酸基 (OH-) をメチルエーテル基 (MeO-) に誘導体化するメチルエーテル化法によるものが多い。OH-PCBs のメチルエーテル化法として、一般的にはジアゾメタンにより誘導体化する方法¹⁴⁾ が用いられている。一方、フェノール系化合物の誘導体化として硫酸ジメチル、トリメチルシリルジアゾメタン (TMS-ジアゾメタン)¹⁵⁾ による誘導体化法が報告されている。しかしながら、これらの誘導体化剤による OH-PCBs の誘導体化率や検量線の直線性を比較した報告はなく、それぞれの誘導体化剤の利点と欠点を総合した評価は行われていない。OH-PCBs の理論異性体数は 837¹⁶⁾ あり、生物種によって多様なコンジェナーパターンを示すことや、大気中において OH ラジカル反応により PCBs から生成することが示唆されている¹⁷⁾ ことから、多くの OH-PCBs 異性体の存在が考えられる。未同定ピークに対しては、親化合物からの推測やマススペクトルの解析を行うことで定性が試みられているが、依然として解析は困難である。これらのことを踏まえ

(助)日本環境衛生センター東日本支局環境科学部

Dept. of Environmental Science, East Branch, JESC

* (独)国立環境研究所環境ホルモンダイオキシンプロジェクト

National Institute for Environmental Studies

ると、GC/MS分析においては、より安定かつ高効率の誘導体化方法が望まれる。そこで、フェノール系化合物をメチルエーテル誘導体化する硫酸ジメチル、炭酸ジメチル、ジアゾメタン、およびジアゾメタンと同様の効果が期待でき、より危険性の低いTMS-ジアゾメタンの4種類の誘導体化剤について、誘導体化効率を比較し、効果的なOH-PCBsの誘導体化法を検討した。

2. 試料と方法

2.1 水酸化PCBs標準物質

native体には一塩素化体:2-OH-5-CB、4-OH-4'-CB; 二塩素化体:2-OH-2',5'-DiCB、4-OH-2',5'-DiCB、2-OH-2',3'-DiCB; 三塩素化体:2-OH-2',4',6'-TriCB、2-OH-2',5,5'-TriCB、4-OH-2,2',5'-TriCB; 四塩素化体:2-OH-2',3',4',5'-TeCB、2-OH-2',4',5,6'-TeCB、3-OH-2',3',5',6'-TeCB、4-OH-2,2',4',6'-TeCB、4-OH-2',3',5',6'-TeCB; 五塩素化体:2-OH-2',3',4',5,5'-PnCB、4-OH-2,2',3',4',5'-PnCB、4-OH-2,2',3',5',6'-PnCB、4-OH-2',3',4',5,6'-PnCB; 六塩素化体:4-OH-2',3,3',5,5',6'-HxCBの合計18種類のAccuStandard, Inc.製OH-PCBsを混合して使用した。サロゲート(SS)として $[^{13}C_{12}]$ 4-OH-2',3,4',5,5'-PnCBをWellington Laboratories Inc.から購入した。また、内部標準物質(IS)としてfluoranthene- d_{10} を関東化学から購入した。

2.2 メチルエーテル誘導体化試薬

硫酸ジメチル、炭酸ジメチルおよびTMS-ジアゾメタンは市販試薬であり、ジアゾメタンはN-Methyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidine (MNNG)と水酸化ナトリウムを反応させて生成したジアゾメタンをジエチルエーテルで捕集して使用した。使用試薬を以下に示す。

硫酸ジメチルによる誘導体化

硫酸ジメチル : 鹿一級 関東化学

水酸化カリウム : 精密分析用 関東化学

エタノール : 残留農薬試験・PCB試験用 関東化学

炭酸ジメチルによる誘導体化

炭酸ジメチル : 99% ACROSS ORGANICS

水酸化カリウム : 精密分析用 関東化学

エタノール : 残留農薬試験・PCB試験用 関東化学

ジアゾメタンによる誘導体化

N-Methyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidine (MNNG):

GLサイエンス

ジエチルエーテル : 残留農薬試験・PCB試験用 関東化学

水酸化ナトリウム : >99% メルク

TMS-ジアゾメタンによる誘導体化

トリメチルシリルジアゾメタン(2.0Mヘキサン溶液):
ALDRICH

メタノール : ダイオキシシン類分析用 関東化学

2.3 実験操作

OH-PCBs混合標準液0.1ng、0.5ng、2ng、10ng、25ngの5段階量それぞれにSSを2ng添加し、各段階ごと3回繰り返し4種類の誘導体化剤を用いて誘導体化を行った。誘導体化操作後、ISを2ng添加した。

2.3.1 硫酸ジメチルによる誘導体化操作

OH-PCBs標準溶液およびSSを窒素気流下で乾固しない程度まで溶媒を揮散させ、3M KOH/エタノールを0.2mL添加し、軽く攪拌した後、硫酸ジメチルを0.5mL添加した。その後、0.5mLずつ3M KOH/エタノールを激しい反応がなくなるまで少量ずつ添加した。誘導体化操作が終了した後、アルカリ溶液と等量のヘキサン洗浄水およびヘキサン2mLを加え、ヘキサンに液一液抽出した。3000rpmで10分遠心分離を行い、ヘキサン相を分取した。この一連の液一液抽出操作を3回繰り返し、窒素気流下でヘキサンを揮散させて2ngのISを添加した。

2.3.2 炭酸ジメチルによる誘導体化操作

硫酸ジメチルと同様の操作を1M KOH/エタノールで操作した。

2.3.3 ジアゾメタンによる誘導体化操作

132mgのMNNGに5M水酸化ナトリウム水溶液0.6mLを反応させて発生させたジアゾメタンを3mLのジエチルエーテルで捕集した。OH-PCBs標準溶液およびSSそれぞれをヘキサンで1mLにし、ジアゾメタンのジエチルエーテル溶液0.6mLを添加して、軽く攪拌し、12時間静置した。静置後、窒素気流下で溶媒を揮散させて2ngのISを添加した。

2.3.4 TMS-ジアゾメタンによる誘導体化操作

OH-PCBs標準溶液およびSSにヘキサン/メタノール(1:1)1mLを加え、TMS-ジアゾメタン0.1mLを添加して、軽く攪拌し、12時間静置した。静置後、窒素気流下で溶媒を揮散させて2ngのISを添加した。

2.4 GC/MS測定

GCにAgilent 6890、MSはJMS-700を使用し、分解能10000以上でOH-PCBsを誘導体化したPCBsメチルエーテル誘導体(MeO-PCBs)を測定した。また、ジアゾメタン誘導体化に関して、PCBsメチル誘導体(Me-PCBs)およびエチルエーテル誘導体(EtO-PCBs)についてもスクリーニング的に測定した。

3. 結果と考察

3.1 誘導体化率

各誘導体化方法につき、5段階量、 $n=3$ の合計15点のGC/MS測定データから検量線を作成した。また、検量線における一次回帰直線式、決定係数(R^2)、MeO-PCBsとSSの相対感度(RRF_{SS})およびMeO-PCBsとISの相対感度(RRF_{IS})の変動係数(CV)を求めた。(Table1.)炭酸ジメチル誘導体化操作では全異性体においてすべての濃度範囲でMeO-PCBsが検出されなかった。炭酸ジメチルは反応が穏やかなために、本条件では反応が進まなかったことが示唆された。

検量線の傾きから一塩素～五塩素化合物においては硫酸ジメチル>TMS-ジアゾメタン>ジアゾメタンの順に誘導体化率が高く、六塩素化合物である4-OH-2',3,3',5,5',6'-HxCBは硫酸ジメチル>ジアゾメタン>TMS-ジアゾメタンの順に高かった。このことから、誘導体化率は硫酸ジメチルが最も大きいことが示された。ジアゾメタンでは2-OH-2',3,4',5,5'-PnCB、4-OH-2',3,3',5,5',6'-HxCBの2化合物のみ誘導体化が見られた(Fig.1)。またSSとして使用した4-OH-[$^{13}C_{12}$]2',3,4',5,5'-PnCBとISの相対感度(RRF)の15点の平均は硫酸ジメチル:0.180(CV=15)、ジアゾメタン:0.114(CV=13)、TMS-ジアゾメタン:0.112(CV=13)であり、これら3つの誘導体化剤によりメチルエーテル化されていた。これら以外の化合物(一～四塩素化合物)では硫酸ジメチルの傾き(0.3299～0.7605)およびTMS-ジアゾメタンの傾き(0.2000～0.5575)と比較してジアゾメタンの傾き(0.0020～0.0259)は小さく、いずれのコンジェナーにおいても明確な誘導体化が起こらなかった。(Table1.)

さらに五塩素化合物についてSSを含めた2ng量におけるISとの RRF で誘導体化効率を比較した。(Fig.2)4-OH-2',3,4',5,6'-PnCBと[$^{13}C_{12}$]4-OH-2',3,4',5,5'-PnCBは5'と6'の塩素の位置が1つ異なる

だけでも関わらず、誘導体化率が大きく異なった。(Fig.2)また、Scheffe法で多重比較検定を行ったところ、各誘導体化方法による3群間すべてに有意差($p<0.0001$)があるとみなされた。これらのことから、各誘導体化剤およびコンジェナーによって誘導体化率が異なり、ジアゾメタンによって一部は誘導体化されるものの、硫酸ジメチルおよびTMS-ジアゾメタンにおいて良好な誘導体化が得られることが明らかとなった。

3.2 安定性

各誘導体化方法によるOH-PCBsの18化合物の R^2 は、硫酸ジメチルを用いた場合は0.9047～0.9975、ジアゾメタンは0.2822～0.9765、TMS-ジアゾメタンは0.9944～0.9993であった。(Table1.)このことから、TMS-ジアゾメタンが最も高い安定性で誘導体化反応が進むことが示された。ジアゾメタン誘導体化での2-MeO-2',3',4',5,5'-PnCB、4-MeO-2',3,3',5,5',6'-HxCBの R^2 はそれぞれ0.9645および0.9765であり、硫酸ジメチルでの同異性体と比較して高い安定性を有していた。(Table1.)さらに、ジアゾメタンでは2-MeO-2',3',4',5,5'-PnCB、4-MeO-2',3,3',5,5',6'-HxCB以外のコンジェナーでは変動が大きく(RRF_{IS} のCV:33-100)、変動の大きさは各コンジェナーで大きく異なった。また、0.1ngのOH-PCBsに対する誘導体化では、ほとんどの異性体でメチルエーテル誘導体が検出されなかった。硫酸ジメチル、ジアゾメタン、TMS-ジアゾメタンの誘導体化によるSSである4-MeO-[$^{13}C_{12}$]2',3,4',5,5'-PnCBとISの RRF の15点でのCVはそれぞれ15,13,13であり、4-OH-[$^{13}C_{12}$]2',3,4',5,5'-PnCBのこれら3種による誘導体化については変動において差がなかった。このことは各実験操作が安定して行われていることを意味している。また、いずれの誘導体化方法を適用してもSSとして安定性を有している。

3.3 ジアゾメタン誘導体化について

ほとんどの文献で一般的に常用されているジアゾメタンの誘導体化効率が低かったことについて考察する。Sandauらは4-OH-2,5'-DiCB、4-OH-2,5'-DiCB、3-OH-2',3',4',5'-TeCB、4-OH-2',3',4',5'-TeCB、2-OH-2',3,3',4',5'-PnCBおよび4-OH-2,3,3',4',5,5',6'-HpCBの6種類のコンジェナーにおけるジアゾメタンとヨウ化メチルによる誘導体化について報告している¹⁸⁾。そこではジアゾメタンの捕集をジエチルエーテルで行うとOH-PCBsはエチル化反応が起きてしま

うために大幅にメチル化反応がロスしてしまうと述べられている。この対策として、ヘキサンで捕集することにしたとある。とはいえ、その方法での $n=5$ での誘導体化の結果、CVは30ほどであり、CVが10%台であるヨウ化メチル誘導体化法のほうが誘導体化効率および再現性がよいと報告している。本実験ではこの報告と同じコンジェナーについて検証を行っていないため、ジアゾメタン誘導体化方法に関して単純比較することができない。本実験ではOH-PCBsの標準溶液のヘキサン溶液1mLにジエチルエーテル捕集溶液0.6mLを添加した。本実験で取り扱った異性体のうち、2-OH-2',3',4',5,5'-PnCB、4-OH-2',3,3',5,5',6'-HxCB および $^{13}\text{C}_{12}$ 4-OH-2',3,4',5,5'-PnCBは明らかに誘導体化が確認されたが、他はメチルエーテル誘導体がほとんど検出されなかった。そのため、誘導体化に使用した溶媒中にジエチルエーテルが1/3量ほど存在することから Sandauらの報告で指摘しているように副反応による誘導体

生成の可能性も考えられた。そこで、エチルエーテル化PCBs(EtO-PCBs)とメチル化PCBs(Me-PCBs)について、各化合物における各異性体の精密質量をGC/MSで測定した。その結果、精密質量と理論存在比から、EtO-PCBsのピークが検出された。しかしながら、Me-PCBsは確認されなかった。とはいえ、これら化合物の標準品がなく定量が不可能であったため量的評価はできないが、あくまでも副反応と考えられる生成量で、主反応といえる生成量とは評価できるほど量的には多くはなかった。ジエチルエーテルベースではなくヘキサンが二倍量ほどあったことで、副反応が穏やかであったことも考えられるが、コンジェナーによっては反応しないことも否定できない。ジアゾメタンでは五塩素化物以下のコンジェナーでは誘導体化が確認されなかったことや、生物試料で報告されている異性体は四塩素化物以上のものが多いことから、ジアゾメタンでは低塩素化物の誘導体化が起こりにくいことも考えられる。

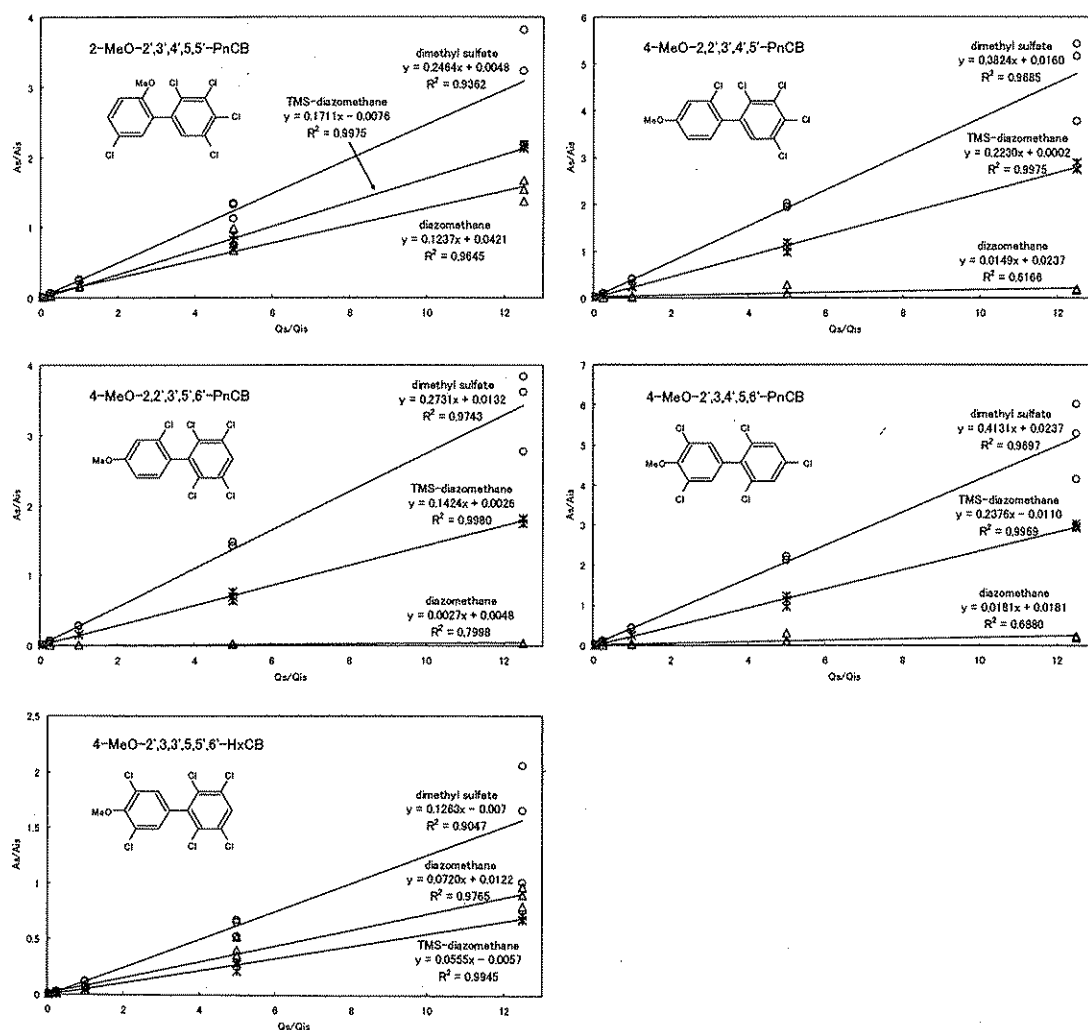


Figure 1. Calibration curve for each derivatization reagents about MeO-PnCB at PnCBs and HxCB.

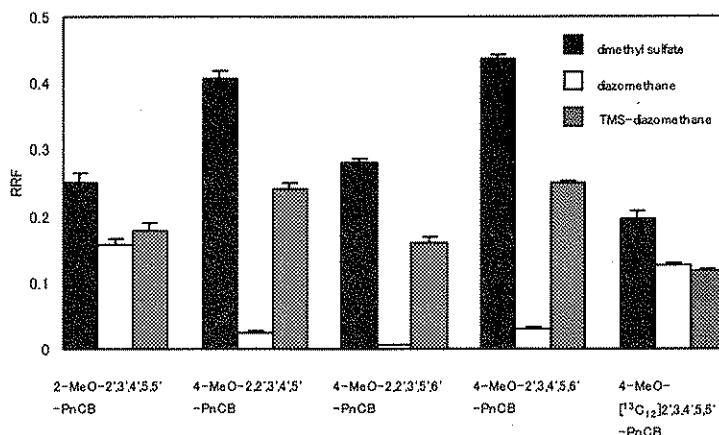


Figure2. Comparison of RRF for internal standard of MeO-PnCBs about each derivatization reagents at 2ng.

Table1. Calibration lines, coefficient of determination (R²), coefficient of variation (CV) of RRF_{ss} and RRF_{is} for OH-PCBs relevant to each derivatization reagents.

Compound	dimethyl sulfate			diazomethane			TMS-diazomethane		
	Calibration curve	R ²	CV RRF _{ss} RRF _{is}	Calibration curve	R ²	CV RRF _{ss} RRF _{is}	Calibration curve	R ²	CV RRF _{ss} RRF _{is}
2-MeO-5-CB	y = 0.5424x - 0.0102	0.9975	18 4.5	y = 0.0089x + 0.0083	0.8227	34* 44*	y = 0.3600x + 0.0394	0.9960	18 7.5
4-MeO-4'-CB	y = 0.6091x - 0.0613	0.9968	20 7.7	y = 0.0149x + 0.0365	0.2822	82* 100*	y = 0.4578x + 0.0434	0.9980	16 13
2-MeO-2',5'-DiCB	y = 0.4453x + 0.0087	0.9955	15 6.0	y = 0.0030x + 0.0042	0.8604	29* 37*	y = 0.2963x + 0.0281	0.9978	12 7.7
4-MeO-2',5'-DiCB	y = 0.4266x - 0.0047	0.9962	16 5.9	y = 0.0044x + 0.0052	0.8834	23* 33*	y = 0.2851x + 0.0318	0.9967	14 5.8
2-MeO-2',3'-DiCB	y = 0.7605x + 0.0050	0.9956	15 4.6	y = 0.0160x + 0.0180	0.7618	33* 46*	y = 0.5575x + 0.0178	0.9993	13 4.7
2-MeO-2',4',6'-TriCB	y = 0.3756x + 0.0065	0.9939	15 6.6	y = 0.0020x + 0.0029	0.8322	25* 36*	y = 0.2233x + 0.0195	0.9989	11 6.7
2-MeO-2',5',5'-TriCB	y = 0.4435x + 0.0049	0.9925	14 5.3	y = 0.0061x + 0.0086	0.7894	20* 34*	y = 0.2469x + 0.0057	0.9967	10 7.6
4-MeO-2,2',5'-TriCB	y = 0.5810x - 0.0135	0.9915	15 5.0	y = 0.0232x + 0.0386	0.5552	46* 63*	y = 0.3639x - 0.0018	0.9988	9.6 6.7
2-MeO-2',3',4',5'-TeCB	y = 0.4846x + 0.0212	0.9817	12 7.4	y = 0.0051x + 0.0096	0.6911	31* 44*	y = 0.2930x - 0.0043	0.9988	8.5 7.2
2-MeO-2',4',5',6'-TeCB	y = 0.6222x + 0.0331	0.9775	10 7.7	y = 0.0259x + 0.0267	0.6536	38 54	y = 0.3756x + 0.0029	0.9988	7.5 11
3-MeO-2',3',5',6'-TeCB	y = 0.5832x + 0.0044	0.9836	13 7.2	y = 0.0081x + 0.0086	0.8583	31* 41*	y = 0.3811x - 0.0072	0.9983	7.0 8.9
4-MeO-2,2',4',6'-TeCB	y = 0.3299x + 0.0022	0.9872	13 6.7	y = 0.0021x + 0.0026	0.8903	25* 33*	y = 0.2000x - 0.0071	0.9970	11 7.9
4-MeO-2',3',5',6'-TeCB	y = 0.5832x - 0.0053	0.9836	14 7.1	y = 0.0113x + 0.0102	0.8475	30* 40*	y = 0.3675x - 0.0035	0.9944	8.3 9.7
2-MeO-2',3',4',5,5'-PnCB	y = 0.2464x + 0.0048	0.9362	7.6 16	y = 0.1237x + 0.0421	0.9645	9.1 18	y = 0.1711x - 0.0076	0.9975	6.7 14
4-MeO-2,2',3',4',5'-PnCB	y = 0.3824x + 0.0160	0.9685	11 9.3	y = 0.0149x + 0.0237	0.6166	42* 58*	y = 0.2230x + 0.0002	0.9975	6.8 13
4-MeO-2,2',3',5',6'-PnCB	y = 0.2731x + 0.0132	0.9743	11 12	y = 0.0027x + 0.0048	0.7998	31* 41*	y = 0.1424x + 0.0026	0.9980	10 16
4-MeO-2',3',4',5,6'-PnCB	y = 0.4131x + 0.0237	0.9697	9.1 11	y = 0.0181x + 0.0181	0.6880	38 53	y = 0.2376x - 0.0110	0.9969	6.6 14
4-MeO-2',3',5',5',6'-HxCB	y = 0.1263x - 0.0070	0.9047	21 28	y = 0.0720x + 0.0122	0.9765	14 19	y = 0.0555x - 0.0057	0.9945	12 18

*: Results excepting minimum quantity(0.1ng), because they are not detected.

4. まとめ

今回用いた 18 種類の OH-PCBs は誘導体化剤によって誘導体化率が異なることが判明した。

炭酸ジメチルでは誘導体化が起こらず、硫酸ジメチルおよび TMS-ジアゾメタンではすべてのコンジェナーについて誘導体化された。ジアゾメタンでは 18 化合物中 2 化合物しか誘導体化が起こらなかった。

ジアゾメタン誘導体化は不純物が少ないので、クロマトグラムのベースラインを低くできることや、マトリックスの残存を減らすことができる。しかしながら、発がん性や加熱、摩擦や振動などで爆発の

リスクを伴うので注意を要する。また、今回誘導体化されないコンジェナーが存在することが判明したことから、実験目的には注意が必要である。

OH-PCBs 分析の誘導体化は、誘導体化効率を求めるならば硫酸ジメチル、安定性を求めるならば TMS-ジアゾメタンによる方法が有効であった。硫酸ジメチルは生物試料の処理においてアルカリ分解を同時に行えるのでクリーンアップ効果は高いが、皮膚接触時の有害性が高いことやアルカリとの反応が激しいため取り扱いにくい。総合的には毒性の低さと取り扱いの容易さ、誘導体化における安定性から TMS-ジアゾメタンの使用が推奨される。

謝辞

本研究を行うにあたり、大阪府環境情報センターの奥村為男氏に OH-PCBs の標準物質のご提供いただきましたことをここに厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Jensen, S. (1966): NEW SCIENTIST, 32, p612.
- 2) Campbell, L. M.; Muir, D. C. G.; Whittle, D. M.; Backus, S.; Norstrom, R. J.; Fisk, A. T. (2003): *Environ. Sci. Technol.*, 37, pp1720-1725.
- 3) Klasson-Wehler, E.; Bergman, Å.; Athanasiadou, M.; Ludwig, J. P.; Auman, H. J.; Kannan, K.; Van Den Berg, M.; Murk, A. J.; Feyk, L. A.; Giesy, J. P. (1998): *Environ. Toxicol. Chem.*, 17, pp1620-1625.
- 4) Sundström, G.; Jansson, B. (1975): *Chemosphere*, 4, pp361-370.
- 5) Sandau, C. D.; Ayotte, P.; Dewailly, É; Duffe, J.; Norstrom, R. J. (2002): *Environ. Health Perspect.*, 110, pp411-417.
- 6) Brouwer, A.; Morse, D.C.; Lans, M. C.; Schuur, A. G.; Murk, A. J.; Klasson-Wehler, E.; Bergman, Å.; Visser, T. J. (1998): *Toxicol. Ind. Health*, 14, pp59-84.
- 7) Brouwer, Å.; Klasson-Wehler, E.; Bokdam, M.; Morse, D. C.; Traag, W. A. (1990): *Chemosphere* 20, pp1257-1262.
- 8) Kester, M. H. A.; Bulduk, S.; Tibboel, D.; Meinel, W.; Glatt, H.; Falany, C. N.; Coughtrie, M. W. H.; Bergman, Å.; Safe, S. H.; Kuiper, G. G. J. M.; Schuur, A.G.; Brouwer, Å.; Visser, T. J. (2000): *Endocrinology*, 141, pp1897-1900.
- 9) Hovander, L.; Malmberg, T.; Athanasiadou, M.; Athanassiadis, I.; Rahm, S.; Bergman, Å.; Klasson-Wehler, E. (2002): *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 42, pp105-117.
- 10) Berger, U.; Herzke, D.; Sandanger, T. M. (2004): *Anal. Chem.* 76, pp441-452.
- 11) Letcher, R. J.; Li, H. X.; Chu, S. G. (2005): *J. Anal. Toxicol.* 29, pp209-216.
- 12) Rozemeijer, M. J. C.; Olie, K.; de Voogt, P. (1997): *J. Chrom. A*, 761, pp219-230.
- 13) Bakke, J. E.; Feil, V. J.; Bergman, Å. (1983): *Xenobiotica*, 13, pp555-64.
- 14) Bergman, Å.; Klasson-Wehler, E.; Kuroki, H. (1994): *Environ. Health Perspect.* 102, pp464-469.
- 15) Aoyama, T.; Terasawa, S.; Sudo, K.; Shioiri, T. (1984): *Chem. Pharm. Bull.*, 32, pp3759-3760.
- 16) Darling, C.; Alae, M.; Campbell, L.; Pacepavicius, G.; Ueno, D.; Muir, D. (2004): *Organohalogencompounds*, 66, pp1497-1502.
- 17) Anderson, P. N.; Hites, R. A. (1996): *Environ. Sci. Technol.* 30, pp1756-1763.
- 18) Sandau, C. D.; Norstrom, R. J. (1996): *Organohalogencompounds*, 29, pp412-417.

Summary

For GC analysis of OH-PCBs, the derivatization of the phenolic hydroxyl group such as methylation or ethylation is needed to volatilize OH-PCBs isomers and to separate them on capillary column because OH-PCBs were polar functional group. The objective of this study was to evaluate the efficiency and stability of four derivatization method with reagents which methoxylate the hydroxyl group of OH-PCBs. The reagents examined are dimethyl sulfate, dimethyl carbonate, diazomethane, and trimethylsilyldiazomethane (TMS-diazomethane). We evaluated their derivatization efficiency from the slope of linear regression lines between derived MeO-PCBs and internal standard. Derivatization efficiency for OH-PCBs except OH-HxCB was high in order of dimethyl sulfate > TMS-diazomethane > diazomethane but no dimethyl carbonate methoxylate OH-PCBs in this study condition. On the other hand, the derivatization stability which was evaluated from coefficient of determination (R^2) of the linear regression lines was good in order of TMS-diazomethane > dimethyl sulfate > diazomethane. These results show that the derivatization with TMS-diazomethane was considered with the most useful for OH-PCBs because that was the most stable in three methods and that efficiency was also relatively good.