

GC-MS/MSによる酸化エチレン分析法の検討

原口 健司 安田 知生 近藤 博文

Analysis of Ethylene Oxide by GC-MS/MS

Kenji HARAGUCHI Tomoo YASUDA Hirofumi KONDOH

要 旨

酸化エチレンの分析法について、GC-MS/MSによるMRM (Multiple Reaction Monitoring) 分析法を検討し、現在行っているSIM (Selected Ion Monitoring) 分析法と比較した。SIM分析法は分析対象成分をイオン化し、それらイオンのうち特定のイオンのみを検出する分析法で高感度な定量分析法として知られている。MRM分析法はSIM分離によるフィルタリングを2回行う分析法で、SIM分析法と比較して分析対象成分の選択性は高く、分析対象成分の妨害物質が共存する場合などに非常に有効な分析法である。一方で、検出器に到達するイオン強度がSIM分析法に比較して低くなるため、妨害物質が少ない場合にはかえってSIM分析法の方が感度よく検出できる場合もある。今回のMRM分析法検討においては、SIM分析法で用いた検出器電圧 (0.94 kV) では検量線最低濃度 (酸化エチレン濃度として60.5 µg/L) の2-プロモエタノールは検出できなかったが、検出器電圧を1.74 kVに上げたことで、2-プロモエタノールのS/N比は約10と感度が向上した。SIM分析法では標準溶液の検量線最低濃度 (酸化エチレン濃度として60.5 µg/L) 溶液1 µLを7反復測定した時の標準偏差は0.38 µg/L、これに3を乗じて算出した装置検出下限値は1.1 µg/L、10を乗じて算出した装置定量下限値は3.8 µg/L (大気濃度換算値0.0038 µg/m³ : 目標定量下限値は0.01 µg/m³) であった。一方、MRM分析法では、標準偏差0.39 µg/L、装置検出下限値1.2 µg/L、装置定量下限値3.9 µg/L (大気濃度換算値0.0039 µg/m³ : 目標定量下限値は0.01 µg/m³) とSIM分析法の場合と同等であった。

キーワード : 有害大気汚染物質、酸化エチレン、GC-MS/MS

Keyword : Hazardous Air Pollutant, Ethylene Oxide, GC-MS/MS

はじめに

酸化エチレンは工業原料や界面活性剤としての用途の他、医療器具の滅菌や食品、衣料の熨蒸消毒剤に使用されている可燃性の気体状化合物である。大気汚染防止法では健康リスクがある程度高いと考えられる優先取組物質に指定されており、京都府においても1999年度から環境測定を開始している。

酸化エチレンの測定法は有害大気汚染物質等測定方法マニュアル¹⁾ 第4部第2章で固体捕集溶媒抽出ガスクロマトグラフ質量分析法 (GC-MS法、SIM分析) による方法が定められており、当所においても本法により分析を行っている。

近年、GC-MS機器が進化し、タンデム質量分析計 (MS/MS) を搭載したGC-MS/MS機器による分析例が増えてきている。MS/MSによるMRM分析法は、分析対象成分の選択性が高く、妨害物質や夾雑物質の影響が少ない分析法として知られている²⁾。そこで今回、本府での有害大気汚染物質の分析の可能性を広げる一環として、酸化エチレンのMRM分析によるメソッド作成を検討し、従来のSIM分析法との違いや留意点について若干の知見が得られたので報告する。

材料と方法

1. 試薬類

抽出溶媒としてメタノール、トルエンは残留農薬・PCB試験用 (富士フィルム和光純薬工業製)、アセトニトリルは局方一般試験用 (富士フィルム和光純薬工業製) を用いた。標準試薬には、2-プロモエタノール (化学用: 富士フィルム和光純薬工業製、純度97%)、内部標準物質として2-プロモエタノール1,1,2,2-d₄ (Cambridge Isotope Laboratories, Inc.、純度98%) を用いた。酸化エチレン捕集管にはORBO-78 (HBR on Carboxen 564 specially cleaned (20/45) 400/200 mg : シグマアルドリッチジャパン製) を用い、抽出助剤として炭酸ナトリウム (特級: 富士フィルム和光純薬工業製) を用いた。

2. 酸化エチレン標準溶液の調製

内部標準物質2-プロモエタノール1,1,2,2-d₄の200 µL/Lメタノール溶液を調製し (酸化エチレン-d₄として129 mg/L)、この溶液50 µLをトルエン: アセトニトリル等量混合液 (50% (v/v) : 50% (v/v)) で50 mLに定容し、内部標準溶液とした。

標準物質2-プロモエタノールの200 µL/Lメタノール溶液 (酸化エチレンとして121 mg/L) を調製し、内部標準溶液1 mLに0、0.5、1.0、2.0、5.0 µL (酸化エチレンとして0、60.5、121、242、605 µg/L) を加え、標準溶液とした。

(令和6年1月4日受理)

3. 試料採取及び試験液の調製

2022年11月15日～16日に久御山局(京都府久世郡久御山町、一般環境測定局)において大気試料の捕集を行った。捕集は捕集管の両端を切断し、ポンプにより0.7 L/minで24時間通気して、大気中の酸化エチレンを捕集剤に含浸されている臭化水素と反応させ、誘導体2-プロモエタノールとして捕集した。捕集剤を取り出し、100 mgの炭酸ナトリウムの入った1.5 mL容のガラス製バイアルに入れ、内部標準溶液1 mLを入れてよく攪拌後、2時間程度放置して溶液上清の1 μLを採取しガスクロマトグラフ質量分析計で分析した。

4. 分析装置、MRM分析法の検討及び分析条件

4-1. 分析装置

分析装置は島津製作所製ガスクロマトグラフ質量分析計GCMS-TQ8040NCNXを用いた。

分析装置への試料導入は、オートサンプラー(島津製作所製AOC-20iPlus)を用いた。オートサンプラーを用いた分析条件では、門田ら³⁾も指摘するように、試料注入時にシリンジの針先が捕集剤中に挿入された場合、試料吸入時にシリンジつまりを起こす恐れがあるため、シリンジの針先が上清の抽出液中にあるようにシリンジのストローク調整をした。今回用いた分析機器では吸着剤の入った試料の注入時にはシリンジの注入深さを初期設定の位置から9 mm上方に再設定して分析を行った。

表1. SIM分析法による酸化エチレン誘導体の分析条件

SIM分析法	
カラム	DB-WAX(60 m, 0.25 mm, I.D.,df=0.25 μm)
オープン温度	40 °C(1 min)→10 °C/min→190 °C(10 min)
キャリアーガス	He 1.2 mL/min (全流量53.5 mL/min)
注入量	1 μL, スプリットレス
気化室温度	200 °C
インターフェース温度	200 °C
イオン源温度	200 °C
検出器電圧	0.94 kV
モニターイオン	2-プロモエタノール m/z 31 (定量用)、m/z 45 (確認用)
	2-プロモエタノール-d4 (内部標準) m/z 49 (定量用)

表2. MRM分析法による酸化エチレン誘導体の分析条件

MRM分析法	
カラム	DB-WAX(60 m, 0.25 mm, I.D.,df=0.25 μm)
オープン温度	40 °C(1 min)→10 °C/min→190 °C(10 min)
キャリアーガス	He 1.2 mL/min (全流量53.5 mL/min)
注入量	1 μL, スプリットレス
気化室温度	200 °C
インターフェース温度	200 °C
イオン源温度	200 °C
検出器電圧	1.74 kV
プリカーサーイオン>プロダクトイオン(CE(V))	2-プロモエタノール m/z 124.00>94.00 (9.00) : 定量用 m/z 95.00>93.00(15.00) : 確認用
	2-プロモエタノール-d4 (内部標準) m/z 98.00>96.00 (3.00) : 定量用 m/z 128.00>96.00(9.00):確認用 m/z 128.00>51.00(3.00) : 確認用

4-2. MRM分析法の検討

以下の手順によりMRM分析法を検討した。

- (1) スキャンモードで測定対象物質の定性分析を行い、マススペクトルから特徴的なフラグメントイオン(プリカーサーイオン)を確認した。これらプリカーサーイオンのうち、質量が大きく(選択性が高い)、強度が強い(感度がよい)ものをプリカーサーイオンとして選択した。
- (2) (1) で選んだプリカーサーイオンを化合物テーブルに設定し、プロダクトスキャンモード(検出器の前段(Q1)のMS四重極部でプリカーサーイオンを選択し、次段(Q2)のコリジョンセルでアルゴンガスと衝突させ、分解してできるプロダクトイオンを後段(Q3)のMS四重極部でスキャン分析する)で、コリジョンエネルギー(CE)を3 V~45 Vの範囲で変化させて分析を行った。
- (3) 得られた結果をもとに、選択したプリカーサーイオンから目的成分の分析に適したプロダクトイオンが得られる最適のエネルギー値を反映したMRM分析メソッドを決定した(機器付属のアプリケーションSmart MRMを使用)。

4-3. 分析条件

SIM分析法及びMRM分析法による分析条件を表1、表2に示す。

結果及び考察

1. SIM分析法

本分析法は、有害大気汚染物質測定方法マニュアル¹⁾第4部第2章で規定されている分析法である。図1にSIM分析法による検量線を示す。直線性が良好な検量線($R^2=0.9998$)が得られた。標準溶液の検量線最低濃度(酸化エチレン濃度として60.5 μg/L)溶液1 μLを7反復測定した時の標準偏差は0.38 μg/L、これに3を乗じて算出した装置検出下限値(IDL)は1.1 μg/L、10を乗じて算出した装置定量下限値(IQL)は3.8 μg/L(大気濃度換算値 $0.0038 \mu\text{g}/\text{m}^3$:目標定量下限値¹⁾は $0.01 \mu\text{g}/\text{m}^3$)であった。ブランク試料(3試料)では2-プロ

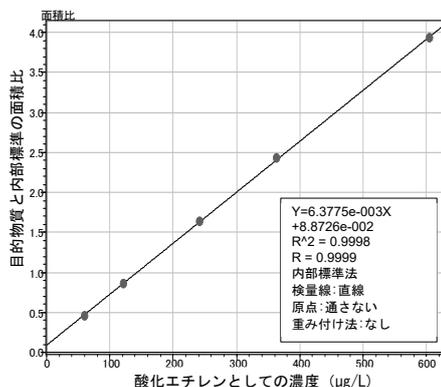


図1. SIM分析法による2-プロモエタノールの検量線

モエタノールは検出されなかった。また、一連のSIM分析終了時に装置の感度変動を確認するため、測定した標準溶液(酸化エチレン濃度として121 µg/L)の検量線による濃度算出結果は124 µg/L(感度変動3%)で、分析法¹⁾で望ましいとされている10%以内の変動であった。

2. MRM分析法

2-1. スキャンモード測定によるプリカーサーイオン及び最適コリジョン電圧の決定

2-プロモエタノール、2-プロモエタノール-d4各10 µL/L濃度の溶液を用いて、スキャンモード測定を行った。得られたマススペクトルを図2に示す。マススペクトルにおいて強度があり、なおかつ分離に適した質量数を選択し、それらをプリカーサーイオンとしてプロダクトイオンスキャンモードで測定した(図中の●印のm/zイオンを選択)。図3は分析機器に付属のMRM最適化アプリケーション(Smart MRM)による画面出力の一例である。選択したプリカーサーイオンから目的成分の分析に適したプロダクトイオンが得られる最適のエネルギー値(CE)が3パターン出力されたので、これらを定量用イオン、確認用イオンの最適エネルギー値としたMRM分析条件を設定した(表2参照)。

2-2. MRM分析法による検量線

MRM分析法では、SIM分離によるフィルタリングを2回行うため、SIM分析法に比べて分析対象成分の選択性は高まる。分析成分の妨害物質が共存する場合などにMRM分析法は非常に有効である。一方で、検出器に到達するイオン強度がSIM分析法に比較して低くなるため、干渉物質が少なくノイズが低い場合などはSIM分析法の方が感度よく検出できる場合もある²⁾。

SIM分析法での検出器電圧は0.94 kVとしていたが、今回検討したMRM分析法においては、検出器電圧0.94 kVでは検量線最低濃度(酸化エチレン濃度として60.5 µg/L)の2-プロモエタノールは検出できなかった(S/N比3未満)。検出器電圧を1.74 kVに上げると2-プロモエタノールのS/N比は約10となり感度が向上した。

図4にMRM分析法による検量線を示す。R²=0.9998の検量線が得られた。ブランク試料(3試料)では2-プロモエタノールは検出されなかった。分析終了時に装置の感度変動を確認するため、測定した標準溶液(酸化エチレン濃度として121 µg/L)の検量線による濃度算出結果は113 µg/L(感度変動7%)で、分析法¹⁾で望ましいとされている10%以内の変動であった。標準溶液の検量線最低濃度(酸化エチレン濃度として60.5 µg/L)溶液1 µLを7反復測定した時の標準偏差は0.39 µg/L、これに3を乗じて算出した装置検出下限値(IDL)は1.2 µg/L、10を乗じて算出した装置定量下限値(IQL)は3.9 µg/L(大気濃度換算値0.0039 µg/m³:目標定量下限値¹⁾)は0.01 µg/m³)とSIM分析法の場合と同等であった。また、ブランク試料に2-プロモエタノールを36.3 µg/L(IDLの約30倍量)となるよう添加して前処理を行った場合の標準品の添加回収率は107%(n=5)と良好であった。

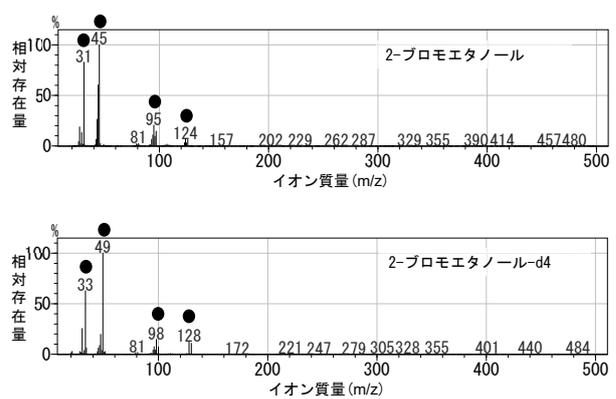


図2. 標準溶液(10 µg/L)のマススペクトル (●をプリカーサーイオンとして選択)

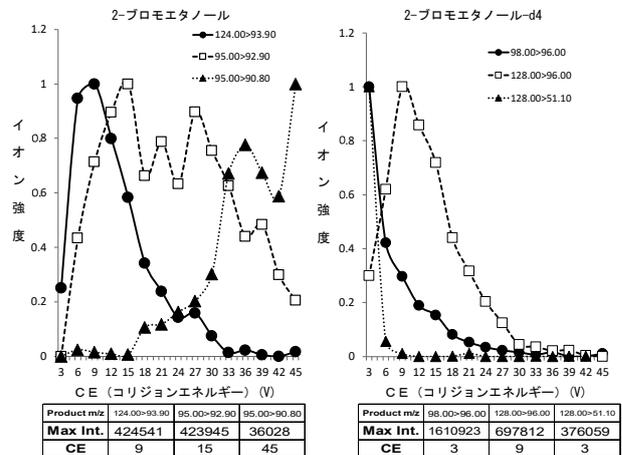


図3. MRM最適化アプリケーションによるプロダクトイオン最適電圧の選択グラフ (イオン強度は最大を1として表示)

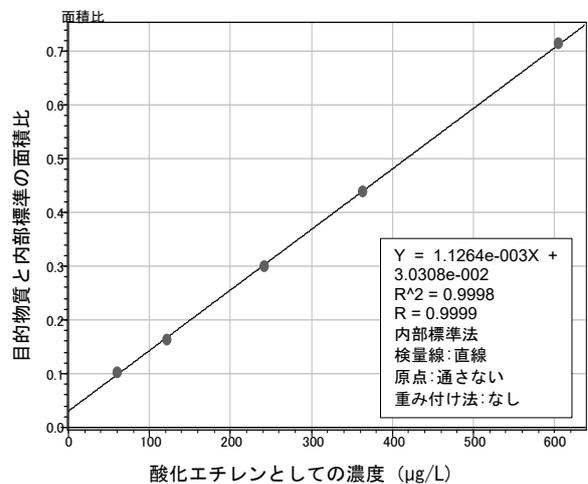


図4. MRM分析法による2-プロモエタノールの検量線

2-3. 大気試料中の酸化エチレンの分析

サンプリングした大気試料中の酸化エチレンをSIM分析法及びMRM分析法で分析を行ったところ、酸化エチレン濃度はSIM分析法で0.026 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、MRM分析法では0.024 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ で同等の結果が得られた。図5に2-プロモエタノールのTICを示す。SIM分析法に比べてMRM分析法ではベースラインの変動が少なく、夾雑物によるピークも低く抑えられている。現在行っている大気中の酸化エチレンの捕集法は捕集管によって酸化エチレンを誘導体化して吸着する方法であるため、試料捕集の段階で一定の成分選択がされているが、妨害物質や夾雑物質が高濃度で含まれる試料の場合にはMRM法が有効である場合も考えられる。

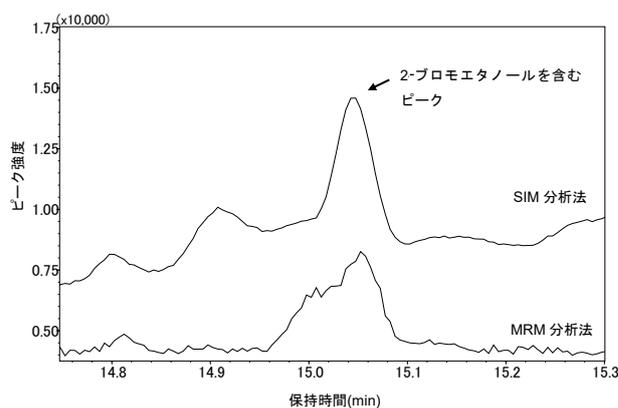


図5. 大気試料中の2-プロモエタノールのTIC

引用文献

- 1) 環境省水・大気環境局大気環境課. 平成31年3月(令和5年5月改定). 有害大気汚染物質等測定方法マニュアル.
- 2) 笠松隆志. 2012. ガスクロマトグラフィータンデム質量分析(GC/MS/MS)の基礎と環境分析での利用について. CHROMATOGRAPHY, 33(2), 97-105.
- 3) 門田実, 石井学, 野村茂, 杉山広和, 前田泉. 2007. 有害大気汚染物質(酸化エチレン)測定法の検討. 岡山県環境保健センター年報, 31, 27-32.