

パージアンドトラップと トリプル四重極 GC/MS による 水中の 1,4-ジオキサンの分析

著者

Katherine Castor,
Taiho Kim, Yue-Dong Men,
Cesar Fernandez, and
Mui Koltunov
California Dept of Toxic
Substances Control (DTSC)
Pasadena, CA, USA

Ron Honnold Ph.D.
Agilent Technologies, Inc.
Wilmington, DE, USA

概要

1,4-ジオキサンはヒト発がん性物質である可能性が高く、米国全土の複数の場所の地下水で検出されています。1,4-ジオキサンの物理的・化学的特性と挙動のため、その特性解析と処理には課題があります。大気中での寿命は比較的短い（半減期は1～3日）ものの、移動性が高く、土壌から地下水に容易に浸出する可能性があり、生分解しにくい環境中では寿命が長くなります。

本研究では、Agilent 7010B 質量分析 (MS) システムに取り付けた Teledyne Tekmar Atomx XYZ パージ & トラップシステムを、リアクションモニタリング (dMRM) モードで使用します。Agilent MassHunter ソフトウェアで、1,4-ジオキサンの検量線を実際に作成し、メソッド検出限界 (MDL) を求めました。

Agilent 7010B トリプル四重極 GC/MS は、コンパクト型ベンチトップのトリプル四重極 (MS/MS) システムの中で最高レベルの感度性能を有するモデルです。電子イオン化 (EI) モードで極微量なアトグラムレベルの検出下限を実現します。超高感度イオン源による大幅な感度向上により、サンプル前処理の最適化が可能となり、より少ない注入量でも十分検出でき、メンテナンスサイクルを減らすことが可能です。

Atomx XYZ は、Teledyne Tekmar の最先端のパージアンドトラップシステムであり、実績ある Atomx 機器プラットフォームを基盤としています。コンセントレータの効率的なトラップ冷却設計により、サンプルサイクル時間が以前のモデルに比べて最大 14 % 短縮されています。84 ポジションの土壌および水オートサンプラと組み合わせると、12 時間でより多くのサンプルをテストできます。革新的な水分制御システム (MCS) により水蒸気の除去が最大 60 % 向上した結果、ピーク干渉が減少し、GC カラムの寿命が延びました。改良を加えた Atomx XYZ は、精密機械加工されたバルブマニホールドブロックを利用して潜在的なリークソースを減らし、システムの信頼性と堅牢性の両方を保証しています。

水中の 1,4-ジオキサンを分析する現在の方法は、パーズ効率が高いという制約があり、検出限界が高い値になっています。しかし、全米で制定された低 $\mu\text{g/L}$ ガイドライン（表1）により、既存のサンプル前処理手順を変更し、より感度の高い機器を使用して、1,4-ジオキサンの分析処理時間を短縮し、より低い検出レベルを可能にすることが求められています。

はじめに

1,4-ジオキサンは、一部の塩素系溶剤、ペンキ剥離剤、グリース、ワックスの安定剤として広く使用されているため、多くの場所で検出されます。さらに、ペンキ剥離剤や、染料、グリース、不凍液、航空機の除氷液、一部の消費者製品など、多くの製品に存在する副産物でもあります。1,4-ジオキサンは、医薬品製造における精製剤としても使用されています。また、ポリエチレンテレフタレート（PET）の製造における副産物でもあります。

1,4-ジオキサンは、地下水および飲料水中の汚染物質として広範に存在し、有害作用を有するおそれがあるため、飲料水汚染物質候補リスト第 4 版に含まれ、規制外汚染物質のモニタリング規則 No.3 に掲載されています（EPA 2009、EPA 2016a）。EPA のリスク評価では、1,4-ジオキサンが 1×10^{-6} のがんリスクレベルを表す飲料水濃度は $0.35 \mu\text{g/L}$ であることが示されています（EPA IRIS 2013）。飲料水の連邦最大汚染物質レベル（MCL）は設定されていませんが（EPA 2012）、さまざまな州が飲料水と地下水のガイドラインを規定しています（表 1）。

表 1. 制定された飲料水と地下水のガイドライン

州	ガイドライン ($\mu\text{g/L}$)	出典
アラスカ	77	AL DEC 2016
カリフォルニア	1.0	Cal/EPA 2011
コロラド	0.35	CDPHE 2017
コネチカット	3.0	CTDPH 2013
デラウェア	6.0	DE DNR 1999
フロリダ	3.2	FDEP 2005
インディアナ	7.8	IDEM 2015
メーン	4.0	MEDEP 2016
マサチューセッツ	0.3	MADEP 2004
ミシシッピ	6.09	MS DEQ 2002
ニューハンプシャー	0.25	NH DES 2011
ニュージャージー	0.4	NJDEP 2015
ノースカロライナ	3.0	NCDENR 2015
ペンシルバニア	6.4	PADEP 2011
テキサス	9.1	TCEQ 2016
バーモント	3.0	VTDEP 2016
ワシントン	0.438	WA ECY 2015
ウェストバージニア	6.1	WV DEP 2009

1,4-ジオキサンは、主に溶媒として使用される透明な揮発性液体であり、連邦および州の規制とレポート作成要件の対象となります。1,4-ジオキサンは、1987 年以来、緊急事態計画および地域社会の知る権利に関する法律（EPCRA）のセクション 313 に基づき、有害物質排出目録（TRI）化学物質として報告されています。大気浄化法（CAA）の下で有害大気汚染物質（HAP）として指定されており、包括的環境対策・補償・責任法（CERCLA）の下での有害物質です。安全飲料水（SDWA）候補汚染物質リスト（CCL）に記載され、規制外汚染物質のモニタリング規則 No.3（UCMR3）に明記されています。

主に土壌と水について、1,4-ジオキサンを試験するために開発されたメソッドがいくつかあります。それらの方法はいずれも、広範なサンプルクリーンアップなしで、水中の低レベルの 1,4-ジオキサンを ppt レベルで正確に検出するための要件を満たしていないため、パーズアンドトラップおよび GC/TQ 技術を使用した試験メソッドの開発が求められています。

揮発性有機化合物（VOC）の飲料水分析は、標準の USEPA メソッドに従ってパーズアンドトラップ濃縮を使用して実施されます。本アプリケーションでは、パーズアンドトラップおよびガスクロマトグラフ/質量分析（GC/MS）のパラメータを変更して、パーズ効率が低い場合でも 1,4-ジオキサンを 1 兆分の 1 レベル（ppt）で検出する堅牢なメソッドを作成します。

ターゲット化合物の 1,4-ジオキサンの定量は、すべてのサンプルおよび、コントロール、キャリブレーションに内部標準として 1,4-ジオキサン-d8 を追加することによって行います。1,4-ジオキサンの重水素化誘導体は、物理的にも化学的にも 1,4-ジオキサンと同じように振る舞い、1,4-ジオキサンの再現性のある正確な定量を可能にします。このメソッドの直線定量範囲は、 $0.1 \mu\text{g/L}$ から $10 \mu\text{g/L}$ （ppb）です。優れた検出限界を実現するために、10 mL のサンプルサイズを使用します。

実験方法

取り込みメソッド

すべての分析は、Atomx XYZ システムと 7010B 質量分析計で実施しました。MS/MS は、感度と選択性を高めるために使用しました。データ処理には MassHunter ソフトウェアを使用しました。

これはトリプル四重極メソッドであるため、オートチューンを使用してメーカーの推奨に従ってチューニングされます。最初にオートチューンを完全に行った後、バッチの開始前または 24 時間ごとに、チェックチューンを実施して合格する必要があります。チェックチューンに合格しない場合は、修正措置を行ってから、完全なオートチューンを実行する必要があります。

GC メソッドのパラメータを表 2 に示します。Atomx XYZ メソッドの詳細を表 3 に示します。MS パラメータは、表 4 および表 5 に示しています。

試料調製

- メスフラスコ、クラスA、1 mL、10 mL、50 mL、すりガラスストップ付き
- 化学天秤
- ガスタイトシリンジ、必要に応じてさまざまな容量のもの
- 40 mL ガラス VOA バイアル
- 結合キャップ、セプタム付き
- 1 mL ふた付きミニナート V-バイアル
- Agilent 121-1324UI : DB-624 UI カラム 20 m × 0.18 mm、1.0 μm
- Agilent 60 μL (ストレート、UI) (部品番号 5190-4047)
- 超高純度ヘリウム
- 超高純度窒素
- メタノール、パーミアンドトラップグレード
- 脱イオン水

表 2. 1,4-ジオキサンの分析に使用した Agilent 7010B トリプル四重極 GC メソッドのパラメータ

GC 注入パラメータ	
温度	200°C
圧力	14.1 psi
セプタムパージ流量	3 mL/分
注入口モード	スプリット
スプリット比	200:1
ライナ	60 μL (ストレート) UI (部品番号 5190-4047)
GC オープンパラメータ	
カラム	Agilent DB-624 UI、20 m × 0.18 mm、1.0 μm (部品番号 121-1324UI)
カラム流量	0.7 mL
分析時間	18 分
初期温度	35 °C
初期ホールド時間	4 分
昇温速度	15 °C/分
最終温度	240 °C
ホールド時間	0.333 分

表 3. 1,4-ジオキサンの分析に使用した Atomx XYZ メソッドパラメータ

Atomx XYZ メソッド		Atomx XYZ メソッド	
パージ設定		脱着設定	
サンプル平衡時間	0 分	ニードル洗浄水量	12 mL
プレスイープ時間	0.25 分	ニードルスイープ時間	0.25 分
プライムサンプル充填量	3 mL	脱着プレヒート温度	245 °C
サンプル量	10 mL	脱着時間	2.0 分
サンプルスイープ時間	0.25 分	ドレイン流量	100 mL/分
サンプルスイープ流量	100 mL/分	脱着温度	250 °C
スパージャベッセルヒーター	あり	GC スタート信号	脱着開始
スパージャベッセル温度	80 °C	ベイク設定	
プレパージ流量	0 mL/分	水ベイク洗浄回数	5
プレパージ時間	0 分	ベイク洗浄水量	12 mL
パージ時間	11.0 分	ベイク洗浄スイープ時間	0.4 分
パージ流量	40 mL/分	ベイク洗浄スイープ流量	100 mL/分
パージ温度	20 °C	ベイク洗浄ドレイン時間	0.6 分
MSC パージ温度	30 °C	ベイク時間	6 分
ドライパージ時間	2 分	ベイク流量	200 mL/分
ドライパージ流量	100 mL/分	ベイク温度	260 °C
ドライパージ温度	20 °C	MSC ベイク温度	180 °C

表 4. 1,4-ジオキサンの分析に使用した Agilent 7010B トリプル四重極 MS メソッドのパラメータ

MS パラメータ	
チューニングファイル	atunes.eihs.tune.xml
MSトランスファライン温度	250 °C
ヘリウムクエンチ流量	2.25 mL/分
N ₂ コリジョンガス	1.5 mL/分
イオン源温度	250 °C
ゲイン係数	20

表 5. 1,4-ジオキサンの分析用 Agilent 7010B トリプル四重極 MS の化合物別 dMRM パラメータ

MS dMRM パラメータ		トランジション	リテンションタイム (RT)	左側 RT デルタ	右側 RT デルタ	コリジョンエネルギー
ターゲット	1,4-ジオキサン	88->58.1 88->56.9	7.64 分	0.6 分	0.6 分	5 eV 5 eV
内部標準	1,4-ジオキサン-d ₈	96->64.1 96->61.9	7.58 分	0.6 分	0.6 分	5 eV 5 eV
ワイド/ワイド四重極分解能ウィンドウ						

キャリブレーションと ISTD の調製

20 mg/L の 1,4-ジオキサンと 4 mg/L の 1,4-ジオキサン-d₈ の 2 つの原液をメタノールで調製しました。20 mg/L の 1,4-ジオキサン溶液は、ミニナートバイアルに移し、後で使用するために冷凍庫に入れて保存することもできます。4 mg/L の 1,4-ジオキサン-d₈ 溶液を、Atomx ユニットの容器に移し、すべてのキャリブレーションレベルとサンプルに自動的に追加しました (10 µL)。

クラス A メスフラスコとガスタイトシリンジを使用して、1,4-ジオキサンのキャリブレーション溶液を作成しました。

目的のキャリブレーション範囲 (0.1 µg/L および、0.2 µg/L、0.4 µg/L、1 µg/L、2 µg/L、5 µg/L、10 µg/L) をカバーする一連のキャリブレーション標準を調製しました。キャリブレーションレベルは、ガスタイトシリンジを使用して 50 mL メスフラスコ (部分的に脱イオン水で満たされている) に特定の量の 20 mg/L 溶液を追加し、フラスコを脱イオン水でラインまで定量することによって作成しました。調製が終わり完全に混合したら、キャリブレーション溶液を 40 mL VOA バイアルに移しました。この際、キャップをしたときにヘッドスペースがゼロになるようにしました。

この分析の線形キャリブレーション範囲は、検証の結果 0.1 ~ 10 µg/L でした。

品質管理チェックでは、検量線の平均レスポンス係数が 20 % 未満の相対標準偏差 (RSD) でなければなりません。各キャリブレーションポイントは、真値から ±30 % の精度である必要があります。定量下限を検証する場合、精度は真値の ±50 % である必要があります。定量下限は、ピークとして分類するには、ピーク間の S/N (高さ) 値が 3:1 を超える必要があります。

サンプル調製

水溶性サンプルは、ヘッドスペースがゼロの 40 mL VOA バイアルに採取し、サンプリング日から 7 日以内に分析しました。水サンプル中の 1,4-ジオキサンの濃度が高いと思われる場合、またはキャリブレーション範囲を超えている場合は、Atomx の希釈機能を利用して最大 1:100 まで希釈できます。

品質管理

20 サンプルの各バッチには、メソッドブランク (MB) および、ラボコントロールサンプル (LCS)、ラボコントロールサンプルデュプリケイト (LCS-D)、マトリックススパイク (MS)、マトリックススパイクデュプリケイト (MS-D) が含まれます。バッチ内の少なくとも 1 つのサンプルについて、サンプルのデュプリケイト (二重測定) が含まれています。

このメソッドの品質管理は、データ収集全体を通してモニタリングしました。メソッドブランクは検出できないレベルであり、キャリーオーバーのないことが確認されました。

初期キャリブレーション (ICAL) は、セカンドソース (ICV) からの認証標準物質を使用して検証し、真値の 30 % 以内でした。

継続的なキャリブレーション検証 (CCV) を、キャリブレーション中点と同じ方法で 1 µg/L で実施しました。各分析バッチの開始時に分析した結果、真値の 20 % 以内に収まりました。

結果と考察

Atomx XYZ パージアンドトラップシステムを装着した Agilent 7010B GC/MS システム

キャリブレーションデータ：レスポンス係数の平均、原点を無視、重み付けなし

7つのレベルを使用 $R^2 = 0.9997$ 、平均 RF RSD = 2.87 % (図 1)

- 2つの継続的なキャリブレーションチェック：精度 101 % および 98 %
- バッチ全体で複数のブランクを実行しました
- 2つの LCS QC：精度 98 % および 99.6 %

1,4-ジオキサン MDL は、EPA のメソッド (EPA 821R16-006) に基づいて計算しました。MDL は、サンプル (検出不可能なレベルの1,4-ジオキサンを含むと事前に決定されたもの) を 0.1 µg/L の 1,4-ジオキサンの濃度でスパイクすることによって決定しました。スパイクしたサンプルの注入による 7 回繰り返し分析により得られたクロマトグラムの例を図 2 に示します。

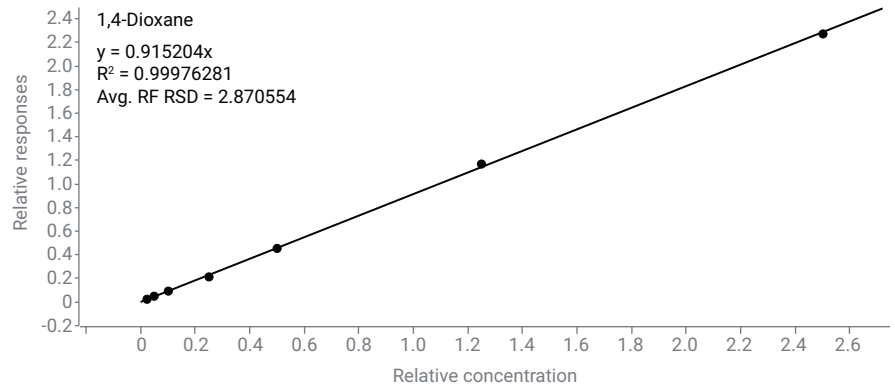


図 1. Atomx XYZ パージアンドトラップシステムを搭載した Agilent 7010B GC/MS システムにおける 1,4-ジオキサン分析の検量線

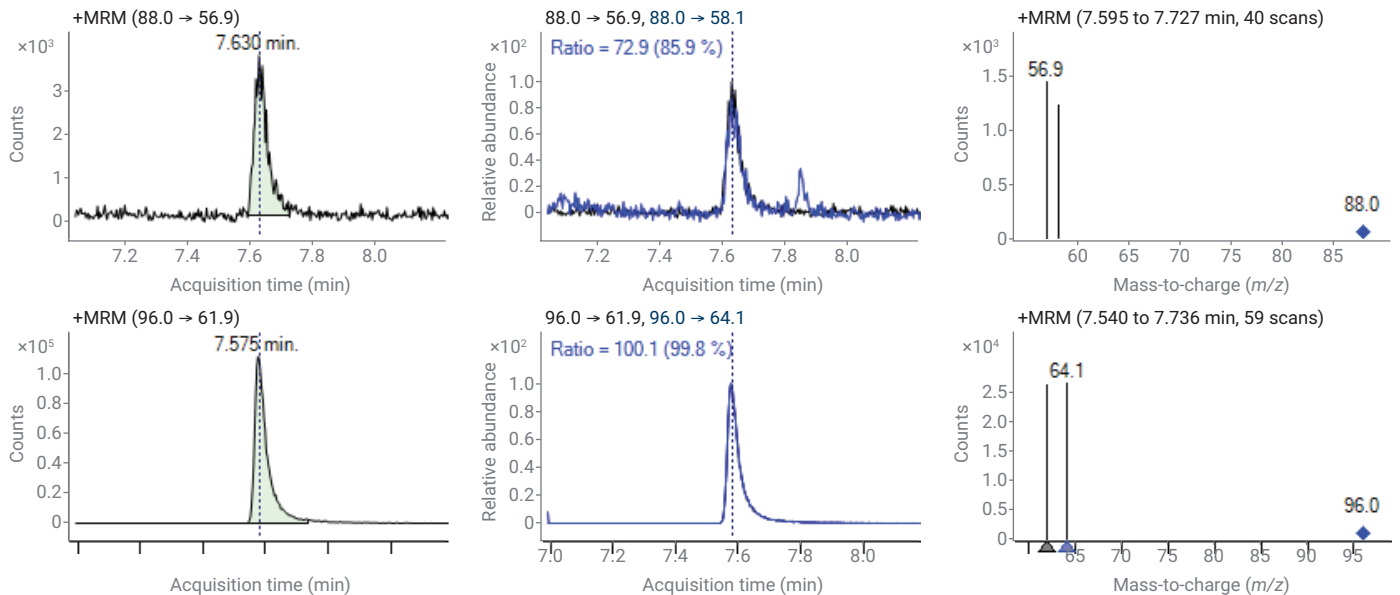


図 2. Atomx XYZ パージアンドトラップシステムを搭載した Agilent 7010B GC/MS システムにおける 1,4-ジオキサンのメソッド検出下限 (MDL) 計算に使用される (0.1 µg/L) サンプル注入のクロマトグラフィーの例

表 6 に示すように、MDL は 0.0198 µg/L、レスポンス RSD は 7.8 % と決定されました。表 7 に示すように、安定性の検証を行いました。

ベストプラクティス

トリプル四重極 GC/MS を使用したパーミアントラップによる水中の 1,4-ジオキサンの分析のベストプラクティスを表 8 に示します。

表 6. メソッドの検出限界は、0.1 µg/L のサンプルを使用して決定しました。計算は、Agilent MassHunter ソフトウェアで自動的に行われ、平均 S/N 比は 9.36 でした。

化合物名	リテンションタイム (分)	トランジション (m/z)	濃度平均 (µg/L)	濃度 RSD (%)	メソッド検出限界 (µg/L)	定量下限 (µg/L)	S/N	Resp. RSD (%)
1,4-ジオキサン	7.633	88.0 -> 56.9	0.1288	4.9	0.0198	0.0629	9.36	7.8

表 7. 1.0 µg/L 標準を使用した継続的なキャリブレーションおよび品質管理サンプルの安定性試験 (計算は Agilent MassHunter ソフトウェアを使用して自動的に行われました)。

サンプル		1,4-ジオキサンの結果			
タイプ	レベル	リテンションタイム (分)	応答値	計算濃度 (µg/L)	正確度 (%)
CC	4	7.64	129123	0.95	95.32
CC	4	7.64	123273	0.92	92.49
CC	4	7.63	81382	1.05	104.92
QC	4	7.64	124063	0.92	92.04
QC	4	7.64	122084	0.93	93.49

表 8. 1,4-ジオキサン分析のベストプラクティス

機器測定	頻度	要件	補正
Check Tune	すべてのバッチの前/24 時間ごと	合格	修正措置/完全なオートチューンの実行
初期キャリブレーション確認 (ICV)	キャリブレーションの直後	ICV ± 真値の 30 %	ICV の再分析、キャリブレーション/修正措置を再実行
継続キャリブレーション確認 (ICV)	各バッチの前	CCV ± 真値の 20 %	CCV の再分析、キャリブレーション/修正措置を再実行
内部標準 (ISTD)	すべてのサンプルおよび、QC、キャリブレーション、機器チェックに追加		
リテンションタイム (RT)	すべてのサンプルで評価	IST DRT ±0.33 分、成分の RT <10 秒から中間点 ICAL または最初の CCV	機器のメンテナンスを検査して実行
マトリックスブランク (MB)	20 個以下のサンプルのバッチごと	成分 < LOQ	再調製/再分析/修正措置
ラボ制御によるスパイクおよびデュプリケート (LCS、LCSD)	20 個以下のサンプルのバッチごと	LCS/LCSD の RPD <20 %	再分析/修正措置
マトリックススパイクとデュプリケート (MS、MSD)	20 個以下のサンプルのバッチごと	スパイク回収率 ±30 %、MS/MSD の RPD <20 %	再分析/修正措置
レスポンスが基準に合格しない場合、過去のキャリブレーションと比較して低い場合、または有効期限に達した場合は、参照物質を交換してください。			
CCV が真値の 20 % 以内で合格しなくなったとき、またはメンテナンスが実行されたときは、再キャリブレーションしてください。			

結論

このメソッドは、EPA 8260D パージアンドトラップ法を使用して、水中の 1,4-ジオキサンを測定するための高感度で堅牢かつ選択的なメソッドを提供します。1,4-ジオキサンは、水への溶解度のため分析が難しいことで知られています。MS/MS とともに高いパージ温度を使用すると、ラボのスループットを犠牲にすることなく、非常に低濃度の 1,4-ジオキサンの検出が可能で、分析時間も妥当なものとなります。この簡便でありながら信頼性の高いメソッドでは、0.02 µg/L (20 ppt) の優れた検出下限で高感度を示し、定量化が容易でベースラインとの区別も簡単です。さらに、7 つの 0.1 µg/L 標準の MDL と精度および正確度は、過剰な水分による影響を受けませんでした。Agilent トリプル四重極 MS/MS 機能と TeledyneTekmar Atomx XYZ パージアンドトラップを使用すると、検出下限の向上、サンプルマトリックス干渉の低減、S/N 比の向上において、少なからぬ効果をもたらされます。ここで説明したメソッドは、水中の 1,4-ジオキサンの分析に対して、信頼性の高いソリューションを提供し、優れた選択性と感度を実現します。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2021
Printed in Japan, October 22, 2021
5994-4285JAJP
RA44475.6146990741

参考文献

1. Technical Fact Sheet – 1,4-dioxane. *United States Environmental Protection Agency*, November **2017**.
2. Integrated Risk Information System: Chemical Assessment Summary for 1,4 Dioxane (CASRN 123-91-1). *United States Environmental Protection Agency*, **2008**.
3. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2012. Toxicological profile for 1,4 Dioxane. Atlanta, GA: U.S. *Department of Health and Human Services, Public Health Service*.
4. U.S. EPA. **2006**. Method 8260D (SW-846): Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS), *Revision 3*. Washington, DC.
5. Method 522 - Determination of 1,4-Dioxane in Drinking Water by Solid Phase Extraction (SPE) and Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC/MS) with Selected Ion Monitoring (SIM)
6. Method 8270D: Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS).
7. U.S. EPA Method 522
8. Modified SW-846 8260 SIM
9. Modified SW-846 8270 SIM
10. Modified SW-846 8270 SIM with isotope dilution