

資料

1,4-ジオキサン分析における固相カートリッジの遠心分離脱水について

北直子・村田さつき・馬場義輝・大石興弘

水質分析における1,4-ジオキサン分析方法は、固相抽出を行った後、固相カートリッジを脱水乾燥して溶媒で1,4-ジオキサンを溶出させGC/MS測定を行うこととなっている。脱水は窒素通気で一般に行われているが、遠心機での脱水を検討した結果、完全に水分を除くことはできないが、GC/MS測定条件をスプリットで行うことで、サロゲートでの1,4-ジオキサンの測定結果(104~109%)及び内部標準液によるサロゲートの回収結果(95~99%)も良好な結果が得られた。遠心分離による脱水は窒素通気で行うより次の点で有利であった。①分析時間が短縮できる。②固相カートリッジを一度に多数処理できる。③窒素ガスの経費が不要である。

[キーワード: 1,4-ジオキサン、遠心分離、回収率、スプリット]

1 はじめに

1,4-ジオキサンは、溶剤や1,1,1-トリクロロエタン安定剤の用途に使用されるほか、ポリオキシエチレン系非イオン界面活性剤及びその硫酸エステル製造工程において副生し、洗剤などの製品中に不純物として存在している。その性状は、水に混和するため環境中に広く検出されることとなった。これらを受けて厚生労働省では水道法で、2003年の水質基準等改正時に基準項目に定めた。環境省もまた水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準等において2004年に要監視項目に、2009年には環境基準項目に定めた。分析項目の多様化及び検体数の増加に伴い、正確かつより迅速な分析法が望まれるようになっている。

1,4-ジオキサンの分析において水分の影響が指摘されている。一般に窒素通気による20分以上が必要とされているが、今回、分析時間の短縮を目的として遠心分離による脱水を比較検討した^{1), 2)}。

2 分析方法

1,4-ジオキサンの分析方法は環境水に関しては環境省の、水道水に関しては厚生労働省の分析方法がそれぞれに定められている^{3), 4)}。両者ともサロゲートを使用したほぼ同じ分析法であるが、環境省は更に内部標準液を用いて、サロゲートの回収率を確認することとなっている。従ってここでは、固相抽出から一連の操作を含む回収率の確認が出来る環境省の方法に準じて行うこととした。但し、溶出アセトン量は厚生労働省の方法に準じた。

2・1 試薬

1) 水: ミリQ水

2) アセトン: 残留農薬・PCB 試験用

3) 1,4-ジオキサン標準原液 (1mg/mL メタノール溶液)
関東化学株式会社製

4) 1,4-ジオキサン標準液 (100 µg/mL)

1,4-ジオキサン標準原液 1mL をメスフラスコ 10mL にとりメタノールで 10 倍に希釈したもの。

5) サロゲート原液 (1mg/mL メタノール溶液)

関東化学株式会社製 1,4-ジオキサン-d8 標準原液を用いた。

6) サロゲート溶液 (100 µg/mL)

サロゲート原液 1mL をメスフラスコ 10mL にとり水で 10 倍に希釈したもの。

7) 内標準原液 (1mg/mL メタノール溶液)

和光純薬株式会社製 4-ブロモフルオロベンゼン標準液を内標準原液とした。

8) 内標準液 (100 µg/mL)

内標準原液 1mL をメスフラスコ 10mL にとりアセトンで 10 倍に希釈したもの。

2・2 器具及び装置

1) カートリッジ型活性炭カラム

Waters製 Sep-Pak Plus AC-2

2) カートリッジ型ポリスチレン樹脂充填カラム

Waters製 Sep-Pak Plus PS-2

3) 固相抽出装置 (コンセントレーター)

Waters製 CHRATEC Sep-Pak Concentrator SPC10-P

4) カートリッジ乾燥機

エムエス機器株式会社製: DRI-BLOCK DB-3L
JAPAN TORIKA CORP.

5) 遠心分離機

株式会社久保田製作所製：ユニバーサル冷却遠心機
KUBOTA5800

- 6) ガスクロマトグラフ質量分析計
島津GCMS-QP2010Plus

2・3 GC/MSの分析条件

- 1) キャピラリーカラム：
アジレント・テクノロジー株式会社製DB-5MS
長さ：30m、内径：0.25mm、膜厚：0.25 μm
- 2) カラム流量：1mL/min
- 3) カラム槽昇温プログラム：
35℃ (3min) →20℃/min →230℃
- 4) 気化室温度：220℃
- 5) 注入量：1 μL
(スプリット：スプリット比10)
- 6) インターフェース温度：220℃
- 7) 定量用質量数及び保持時間

表1 定量用質量数及び保持時間

物質名	定量用質量数 (確認用質量数)	保持時間 (分)
1,4-ジオキサン	88 (58)	4.11
1,4-ジオキサン-d8 (サロゲート)	96 (64)	4.07
4-プロモフルオロベンゼン (内標準物質)	95 (174)	7.16

2・4 1,4-ジオキサンの分析法

図1に分析フローシートを示す。

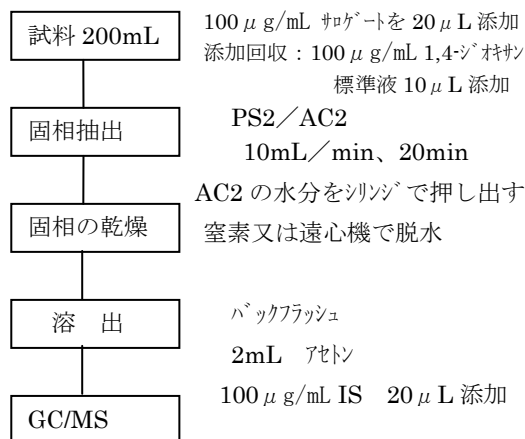


図1 1,4-ジオキサンの分析法

2・4・1 前処理、GC/MS試料液の調製

ミリ Q 水 200mL を 200mL 容フラン瓶 (攪拌子を入れた) にとり、サロゲート溶液 20 μL を添加して攪拌、1,4-ジオキサン標準液 10 μL 添加して攪拌した。攪拌はゆっくりと約 20 秒間行った。これをアセトン及びミリ Q 水でコンデ

通水して固相抽出し、ミリ Q 水 10mL で洗浄した。カートリッジを取り外し、AC2 の水分を 10mL 容シリンジで軽く押し出した。この後、水分除去を窒素通気又は遠心分離で条件を変えて行った。窒素通気は 20 分間、40 分間、60 分間で、遠心分離は、1000rpm、2000rpm、3000rpm、4000rpm 各 30 秒間及び 1 分間で、各条件ごとに 3 個、全部で 33 個行った。溶出はバックフラッシュでアセトン 2mL (1mL/min) で行い、内標準液 20 μL を添加し GC/MS の試料とした。操作ブランクは、窒素通気 20 分間で行った。なお、ミリ Q 水 200mL に 1,4-ジオキサン標準液 10 μL の添加は、基準値の 1/10 (報告下限値) に相当する濃度である。

2・4・2 検量線

検量線 I は、1,4-ジオキサン標準液 0, 10, 20, 30, 40 μL をとり、それらにサロゲート溶液 20 μL を添加しアセトンで 2mL として、GC/MS 測定し 1,4-ジオキサン濃度と 1,4-ジオキサン/サロゲート (面積比) から作成した。検量線 II はサロゲート溶液 0, 10, 20, 30, 40 μL をとり、それらに内標準液 20 μL を添加しアセトンで 2mL として GC/MS 測定しサロゲート濃度とサロゲート/内標準液 (面積比) から作成した。検量線 I の 1,4-ジオキサン濃度は、試料換算濃度で、0, 5, 10, 15, 20ng/mL で GC/MS 測定時濃度では、0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 μg/mL である。検量線 II についても検量線 I と同じ数値濃度である。検量線 I 及び検量線 II を図 2 及び図 3 に示す。試料換算濃度 0~20ng/mL においていずれも相関性は良好であった。検量線 I を 1,4-ジオキサンの添加回収率に、検量線 II をサロゲートの回収率の算出に用いた。

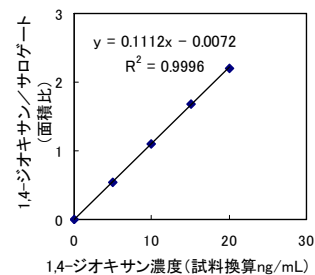


図2 検量線 I

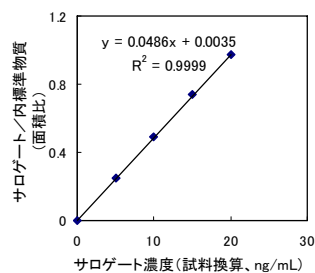


図3 検量線 II

3 結果及び考察

3・1 固相カートリッジの乾燥

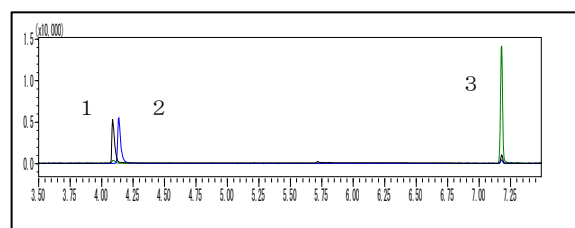
表2に各条件で固相カートリッジを脱水乾燥した結果を示す。AC2の始めの重さは、約3.0g、固相抽出後AC2をシリレンジで軽く脱水した後の水分量は約0.38gだった。窒素通気では、20分、40分及び60分間とも水分除去が完全に行われていた。遠心分離では、1000rpm30秒間及び1分間とも、ほとんど脱水されていなかった。2000rpmから4000rpmへと回転数が上がるに従って脱水される量は多くなるが、2000rpm30秒間の場合0.27g、4000rpm 1分間でも0.23gの水分が残っていた。効率的には、遠心分離は2000rpm30秒間で良いと思われる。

3・2 1,4-ジオキサン及びサロゲート回収結果

操作ブランクについては、1,4-ジオキサンは不検出でサロゲートの回収率は94.5%であった。表3に乾燥条件による1,4-ジオキサンの回収及びサロゲート回収結果を示す。1,4-ジオキサンの回収結果は、試料①～③の9個では103.7～112.9%（平均では104.9～108.3%）、試料④～⑩の24個では、101.0～113.7%（平均では104.2～109.3%）であり、公定法の確認事項70～120%を満足していた。サロゲートの回収率も、試料①～③の9個では90.4～96.9%（平均では91.3～94.3%）、試料④～⑩の24個では、90.1～102.4%（平均では94.7～99.1%）であり、公定法の確認事項50～120%を満足していた。窒素通気でも遠心分離でも乾燥条件の違いに関わらず同等の結果が得られた。

3・3 クロマトグラム

図4-1に1,4-ジオキサン、1,4-ジオキサン-d8及び4-ブromofluorobenzene（各10ng/mL：試料換算濃度）の定量イオンクロマトグラム、図4-2～図4-4に検量線I（1,4-ジオキサン：5ng/mL 1,4-ジオキサン-d8：10ng/mL：試料換算濃度）、試料①及び試料⑥のクロマトグラムを示す。図4-1は測定クロマト全てで保持時間3.5～7.5分のもの、図4-2～図4-4は保持時間3.9～4.4分のもので1,4-ジオキサン、1,4-ジオキサン-d8のクロマトのみを示す。検量線Iのクロマトグラムと窒素通気、遠心脱水の前処理の操作を行ったクロマトグラムをみるとクロマト形状はほぼ同じであった。なお、試料①は窒素通気20分間で水分が完全に除去されているが、試料⑥は遠心分離2000rpm、30秒間で水分が0.27g残り、溶出アセトン溶液中には水分が13.5w/v%存在することになる。GC/MS測定においてスプリット（スプリット比10）をかけることで溶媒及び水分の影響はほとんどないと考えられた。また、内標準物質のクロマトグラムについては、全て良好であった。



*1: 1,4-ジオキサン-d8 2: 1,4-ジオキサン 3: 4-ブromofluorobenzene

図4-1 1,4-ジオキサン、1,4-ジオキサン-d8及び4-ブromofluorobenzeneのクロマトグラム（各10ng/mL：試料換算濃度）

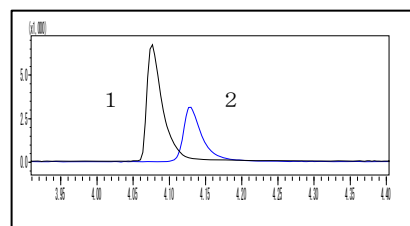


図4-2 検量線 I（1,4-ジオキサン：5ng/mL 1,4-ジオキサン-d8：10ng/mL：試料換算濃度）

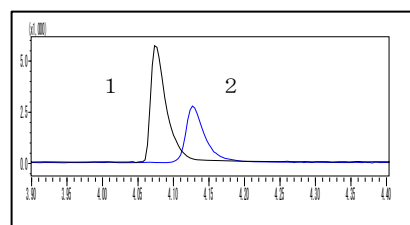


図4-3 試料① 窒素20分（1,4-ジオキサン：5ng/mL 1,4-ジオキサン-d8：10ng/mL：試料換算濃度）

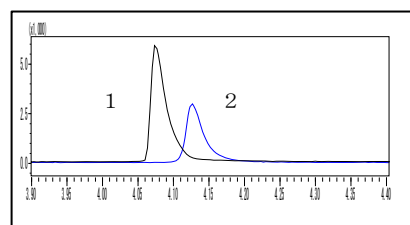


図4-4 試料⑥ 2000rpm、30秒間（1,4-ジオキサン：5ng/mL 1,4-ジオキサン-d8：10ng/mL：試料換算濃度）

4 まとめ

1,4-ジオキサンの分析において固相カートリッジ（AC2）の乾燥はGC/MS測定上、必要とされているが、窒素ガスによる乾燥は時間を要し費用もかかることから、遠心分離による脱水乾燥を検討した。その結果、遠心分離による脱水は十分ではないが、GC/MS測定においてスプリットをかけることで溶媒及び水分の影響はほとんどなく、報告下限値の添加回収においても良好な測定結果が得られた。また、クロマトグラムの形状は検量線のものと同様であった。

5 参考文献

- 1) 安部明美：総説 1,4-ジオキサンによる水環境汚染の実態と施策, 神奈川県環境科学センター研究報告, 29, 53-63, 2006
- 2) 岡本仁志, 石原正彦, 小村雅男：固相抽出-GC/MS法における1,4ジオキサン及びエピクロロヒドリン一斉分析法の検討, (財)島根県環境保健公社, 第12回日環協・環境セミナー, 平成16年11月
- 3) 環境省：水質汚濁に係る環境基準について, 付表7, 環境庁告示第59号, 昭和46年12月28日 (平21環告78)
- 4) 厚生労働省：水質基準に係る検査方法, 厚生労働省告示第261号, 平成15年7月22日

表2 固相カートリッジ(AC2)の乾燥条件による含水量の平均 (n=3)

乾燥条件		AC2 始めの重さ	抽出後 AC2 の含水量	脱水後、AC2 の含水量
窒素通気	20分 ①	2.99	0.39	0.00
	40分 ②	2.98	0.38	0.00
	60分 ③	3.00	0.39	0.00
1000rpm	30秒 ④	3.00	0.38	0.38
	1分 ⑤	2.99	0.38	0.38
遠心分離	2000rpm 30秒 ⑥	2.98	0.37	0.27
	1分 ⑦	3.00	0.38	0.28
3000rpm	30秒 ⑧	2.99	0.38	0.25
	1分 ⑨	3.00	0.38	0.24
4000rpm	30秒 ⑩	2.99	0.39	0.23
	1分 ⑪	2.99	0.37	0.23

単位：g

表3 乾燥条件による1,4-ジオキサンの回収及びサロゲートの回収結果 (n=3)

乾燥条件	1,4-ジオキサン回収率、%				サロゲート回収率、%				
	N1	N2	N3	平均	N1	N2	N3	平均	
窒素通気	20分 ①	104.8	104.8	112.9	107.5	92.0	90.5	91.3	91.3
	40分 ②	111.5	107.5	105.9	108.3	92.6	93.6	96.9	94.3
	60分 ③	103.7	106.5	104.4	104.9	90.4	94.1	93.9	92.8
1000rpm	30秒 ④	113.7	104.9	105.0	107.9	95.0	102.4	96.5	98.0
	1分 ⑤	106.4	104.6	112.4	107.8	98.5	95.6	90.1	94.7
2000rpm	30秒 ⑥	111.4	105.0	104.2	106.9	97.1	96.6	96.3	96.7
	1分 ⑦	109.5	107.3	102.4	106.4	96.6	100.8	99.9	99.1
3000rpm	30秒 ⑧	108.2	101.6	105.3	105.0	95.5	97.0	94.1	95.5
	1分 ⑨	101.0	105.6	105.9	104.2	97.3	94.0	94.8	95.4
4000rpm	30秒 ⑩	113.5	107.1	107.4	109.3	95.3	96.2	96.4	96.0
	1分 ⑪	110.4	106.1	111.4	109.3	96.3	97.9	100.4	98.2

*) ミリQ水 200mL に 100 μg/mL 1,4-ジオキサン標準液 10 μL 及び 100 μg/mL サロゲート 20 μL を添加して回収試験を行った。