

【調査研究】

環境中超微量有害化学物質の分析，検索技術の開発に関する研究

- LC/MS/MS 法を用いた硫黄マスタードガス分解物（チオジエタノール）の分析 -

林 隆義，劔持堅志，浦山豊弘，杉山広和，藤原博一（水質第二科）

要 旨

旧軍毒ガス弾に関連する有毒成分の分析は，標準品が市販されていないことから，定量的な分析を実施することは極めて困難であった。このため，硫黄マスタードガスについて，その分解物であるチオジエタノール（エチレンチオグリコール）の分析法を検討した。分析法は，水質試料を固相ディスク（C8）でろ過した後，ろ液を活性炭（AC2）に吸着し，活性炭のメタノール溶出液を LC/MS/MS 測定する方法を検討し，妨害を受けにくい分析法を確立した。

【キーワード：旧軍毒ガス弾等フォローアップ調査，硫黄マスタードガス分解物，活性炭吸着，チオジエタノール（エチレンチオグリコール），LC/MS/MS】

1 はじめに

平成15年3月，茨城県神栖町において旧軍毒ガス弾が原因と考えられる地下水汚染により健康被害が発生したことを契機に，平成15年11月，環境省は，「旧軍毒ガス弾等の全国調査のフォローアップ調査」を実施するなど，岡山県においても，毒ガス等に含まれる有毒成分を分析できる体制を整えることが急務となった。しかしながら，これらの有毒成分は，標準品が市販されていないことから，定量的な分析を実施することは極めて困難であった。このため，筆者らは，毒ガス成分である硫黄マスタードガスが水に溶解すると加水分解し，チオジエタノール（エチレンチオグリコール）を生成するとの報告^{1,2)}に着目し，標準品が入手可能で定量的な分析が可能と考えられるチオジエタノールの分析を試みた。その結果，活性炭吸着法と LC/MS/MS 法を組み合わせることにより，妨害の少ない定量的な分析が可能であることを見いだしたので報告する。

2 実験方法

2.1 試薬

チオジエタノール：東京化成製 1 級
ガラス繊維ろ紙：Whatman 製 GF/C (47mm)
固相ディスク：Empore 社製 C8 (47mm)，抽出装置にガラス線維ろ紙（GF/C）を積層して装着後，メタノール20ml（2回）及び精製水20ml

（2回）を用いて活性化した。

固相カートリッジ：Waters 社製 Sep-Pak Plus AC - 2 及び C8，予めメタノール10ml 及び精製水10ml（2回）を用いて活性化した。

その他試薬は，HPLC 分析用，残留農薬分析用または特級試薬を用いた。

2.2 測定法

LC/MS の測定条件

使用機種：アプライドバイオシステムズ社製 API 3000

使用カラム：GLサイエンス ODS - 3 (2.0mmI. D ×150mm, 3µm)

移動相：30%メタノール (0.2mL/min)

カラム温度：25

試料注入量：10µL

MS 測定条件：NEB：14.0 CUR：12 NC：- 2.0 ESI probe：400 DF：- 26.0 FF：- 260.0 EF：- 10.0 CE：- 14.0 CXF：- 15.0

イオン化法：負イオンエレクトロスプレー

イオン化法（ESI-Negative）

測定法：MS/MS 法

M/Z 58.8/121.0, M/Z 76.9/121.0, M/Z 102.8/121.0

2.3 分析方法

分析法の概要を図1に示した。その詳細は，次のと

おりである。

試料水200mlを固相ディスク(C8)に通水し、懸濁物質及び疎水性成分を除去した。ろ液は、C8固相カートリッジを上部に連結した活性炭固相カートリッジに通水し、目的物質を活性炭に吸着させた。通水後、精製水10mlを用いて活性炭カートリッジを洗浄後、3分間通気乾燥した後、メタノール6mlを用いて溶出した。溶出液を窒素吹きつけ濃縮により約0.2mlまで濃縮後、水を添加して1mlに定容した。

3 結果及び考察

3.1 LC/MS測定条件の検討

硫黄マスタードガスは、水に溶解すると加水分解し、チオジエタノール(エチレンチオグリコール)を生成すると報告¹⁾²⁾されている。

しかしながら、チオジエタノールは、極めて水溶性が高く、GC/MSでは検出できないことから、LC/MSによる分析を試みた。チオジエタノールは、図2に示すようにESI-NegativeモードでM-Hイオン(M/Z 121)を検出することができたが、LC/MSで通常測定されている他の物質に比較して、そのイオン強度は低

い傾向を示した。しかし、この測定対象イオンのM/Z 121は、LC/MS装置のバックグラウンドピークとしても存在し、SIMモードでは、バックグラウンドピークの影響を受けて高感度な測定は不可能であった。また、地下水試料を減圧濃縮のみで前処理した試料液をSIMモードで測定したところ、図3に示すように、強度の強い多数の妨害ピークが検出されたことから、MS/MS測定によるバックグラウンドの低減化と、前処理による妨害の排除を検討した。

MS/MSモードでは、チオジエタノールは、3個の娘イオン(M/Z 58.8/121.0, M/Z 76.9/121.0, M/Z 102.8/121.0)を生成し、SIMモードに比較して、バックグラウンドの影響を受けにくい測定が可能になり、また、感度は低いながら、図4に示すように検量線は良好な直線性を示し、検量線から推定される検出限界は、0.2μg/Lであった。

3.2 固相カートリッジを用いた抽出法の検討

チオジエタノールは、水溶性が高いことから、ジクロロメタン等を用いた抽出は不可能であった。このため、活性炭、C18等のODS系固相カラムを用いた抽出を検討した。活性炭カラム(AC-2)では、図5

試料水(200ml) ろ過(固相ディスク:GF/C+C8) ろ液 活性炭吸着(C8+AC-2)
AC-2を水洗(10ml), 溶出(メタノール6ml) 濃縮(0.2ml) 定容(水1ml)

図1 分析法フローチャート

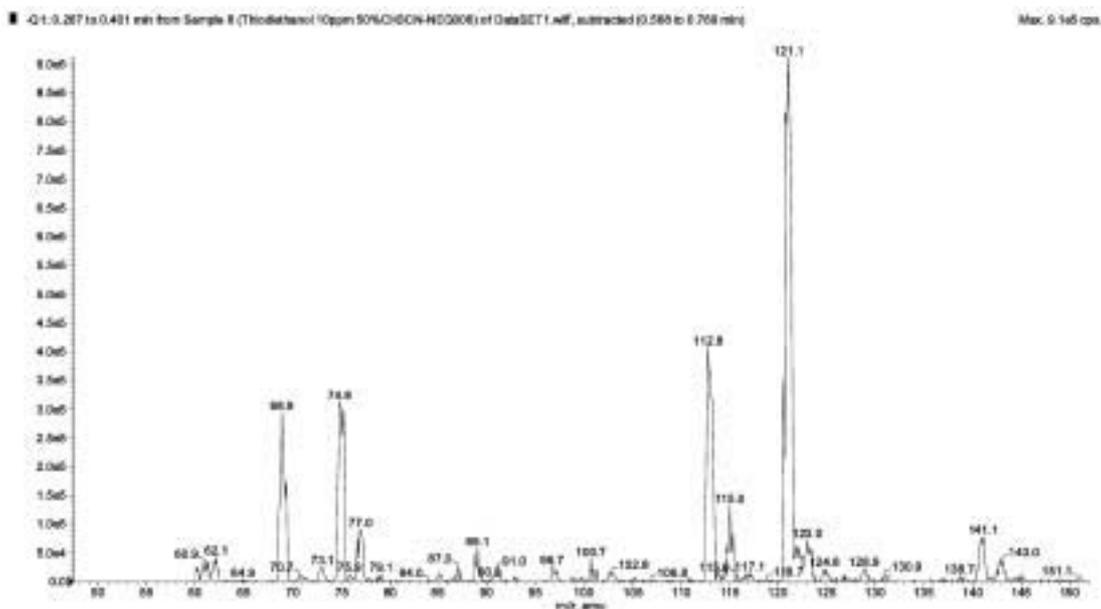


図2 チオジエタノールのLC/MS(ESI-Negative)スペクトル

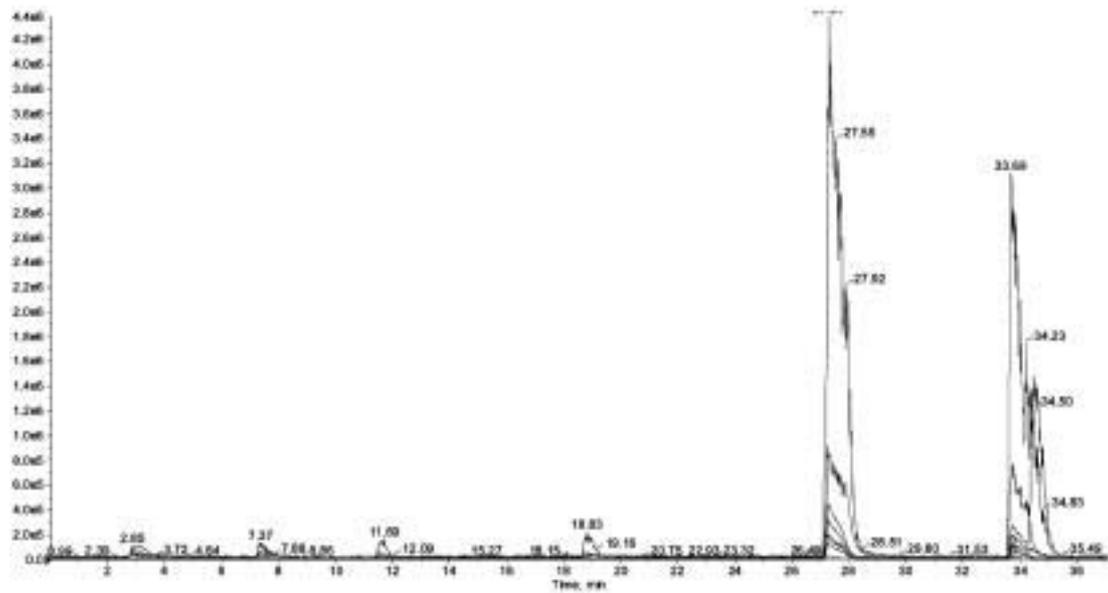


図3 SIMモードで地下水10倍濃縮液を測定した場合に生じる妨害ピーク

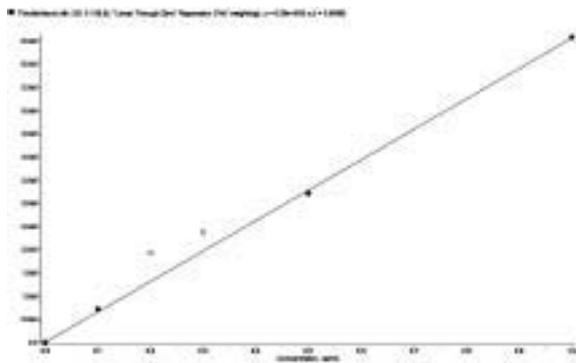


図4 チオジエタノールの検量線 (M/Z 58 8/121 0, 検量線範囲: 0.1 ~ 1 µg/ml)

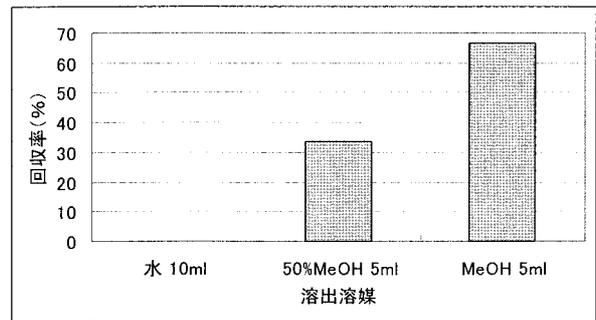


図5 活性炭カラム (AC - 2) におけるチオジエタノールの溶出状況

に示すように水系では完全に吸着され、メタノールで溶出可能であった。一方、ODS系カラムであるC18では、水系では完全に吸着されず、約40%が漏出する傾向を示した(図6)。

これらの結果は、ジオキサンの持つ性質と類似していることから、ジオキサンの分析法³⁾を参考に、ODS系固相カラムにより目的物質を吸着・濃縮する方法を検討した。C18系カラムでは、チオジエタノールが若干固相に吸着されることから、C18系カラムより吸着力の弱いC8系固相カートリッジを検討した。チオジエタノールは、水系溶媒ではほとんどC8固相に吸着されないことが明らかになったことから、C8系固相カラムを疎水性妨害物質の除去カラムとして採用し、ろ液に溶出した目的物質を活性炭カラムに吸着することとした。

3.3 活性炭カラムにおける挙動

活性炭カラム(AC-2)における溶出状況を図7に示した。チオジエタノールは、メタノールを溶出溶媒とした場合には、約6mlで完全に溶出した。一方、試料液量を10ml及び200mlに変化させた場合の回収率を図8に示したが、試料量を200mlに増加させた場合には、回収率は約60%に低下した。

3.4 減圧濃縮における損失

比較的大量の試料液(200ml)を活性炭吸着した場合に、回収率が低下したことから、試料水を減圧濃縮により濃縮する方法を検討した(図9)。水試料の濃縮(濃縮温度60)では濃縮損失はほとんど認められなかったが、メタノールを溶媒とした場合(濃縮温度35)には、若干の回収率低下が認められた。

なお、HPLCの移動相が30%水/メタノールである

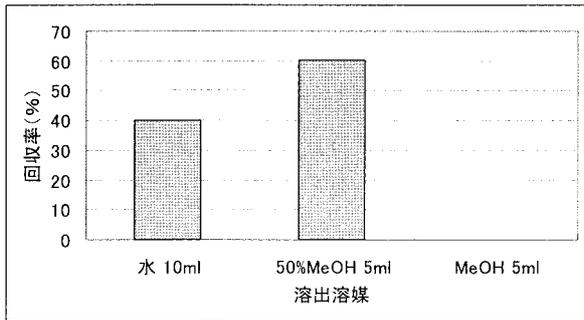


図6 ODS系カラム(C18)におけるチオジエタノールの溶出状況

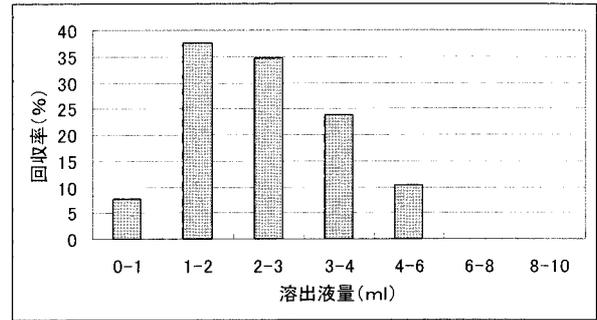


図7 活性炭カラム(AC-2)におけるチオジエタノールの溶出状況

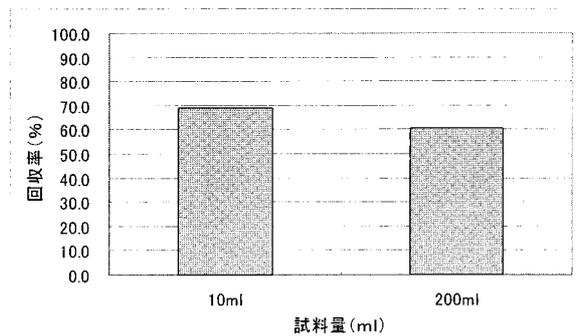


図8 活性炭カラム(AC-2)吸着回収率に対する試料量の影響

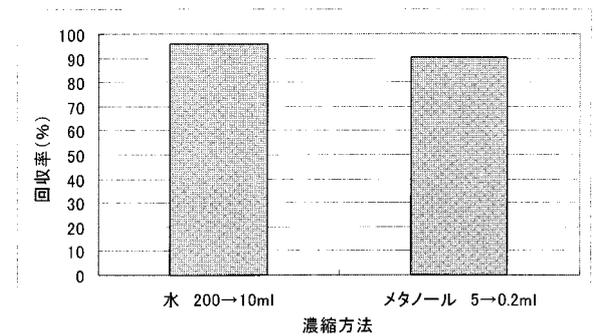


図9 減圧濃縮における回収率に対する濃縮溶媒量の影響

ことから、メタノールを試料液としてHPLCに注入した場合にはピーク幅がブロードになることから、注入液中のメタノール濃度は、30%以下にする必要があった。

3.5 固相ディスクを用いた妨害物質の除去

カートリッジカラムを用いた固相抽出では、懸濁物質等に起因するカートリッジカラムの目詰まりが生じて濃縮が困難になる場合がある。このため、固相抽出法による濃縮では、水試料を予めろ過して懸濁物質を除去する方法が採用される場合が多い。この際にろ剤として、固相ディスクを用いて妨害となる疎水性成分を除去することが可能ならば、単純なる過操作よりもカートリッジカラムの目詰まり防止と妨害物質の除去が効果的と考えられる。このため、カートリッジカラムにおいて、チオジエタノールがC8系固相に吸着されない性質に着目して、C8固相ディスクを用いた妨害物質の除去を検討した。C8系固相ディスクを用いたろ過操作におけるチオジエタノールの回収率は約91%を示し、カートリッジカラムを用いた固相抽出を行う前の祖クリーンアップ操作として、極めて効果的

であった。

3.6 添加回収率と地下水の分析例

図1に示す分析法における添加回収率は、70.8% (RSD=2.3%, n=3)を示した。回収率がやや低下する要因として、活性炭固相カートリッジカラムに対する試料液量の影響が推定されたため、固相ディスク処理を行ったろ液200mlを20mlに減圧濃縮(濃縮温度:60)した後、活性炭固相カートリッジカラムによる吸着を行う分析法を検討したが、その回収率は、53.0% (RSD=4.0%, n=3)を示し、更に回収率が低下した。この原因は、夾雑物質を含む実試料を減圧濃縮した場合には、精製水に比較して回収率が低下すること、更に、前処理ステップ数が増加したことに起因すると推定された。

地下水の分析結果を図10に示したが、水溶性物質であるチオジエタノールに適した前処理を実施したこと、更に、LC/MS/MS測定の高選択性の効果により、妨害の無い測定を行うことができた。

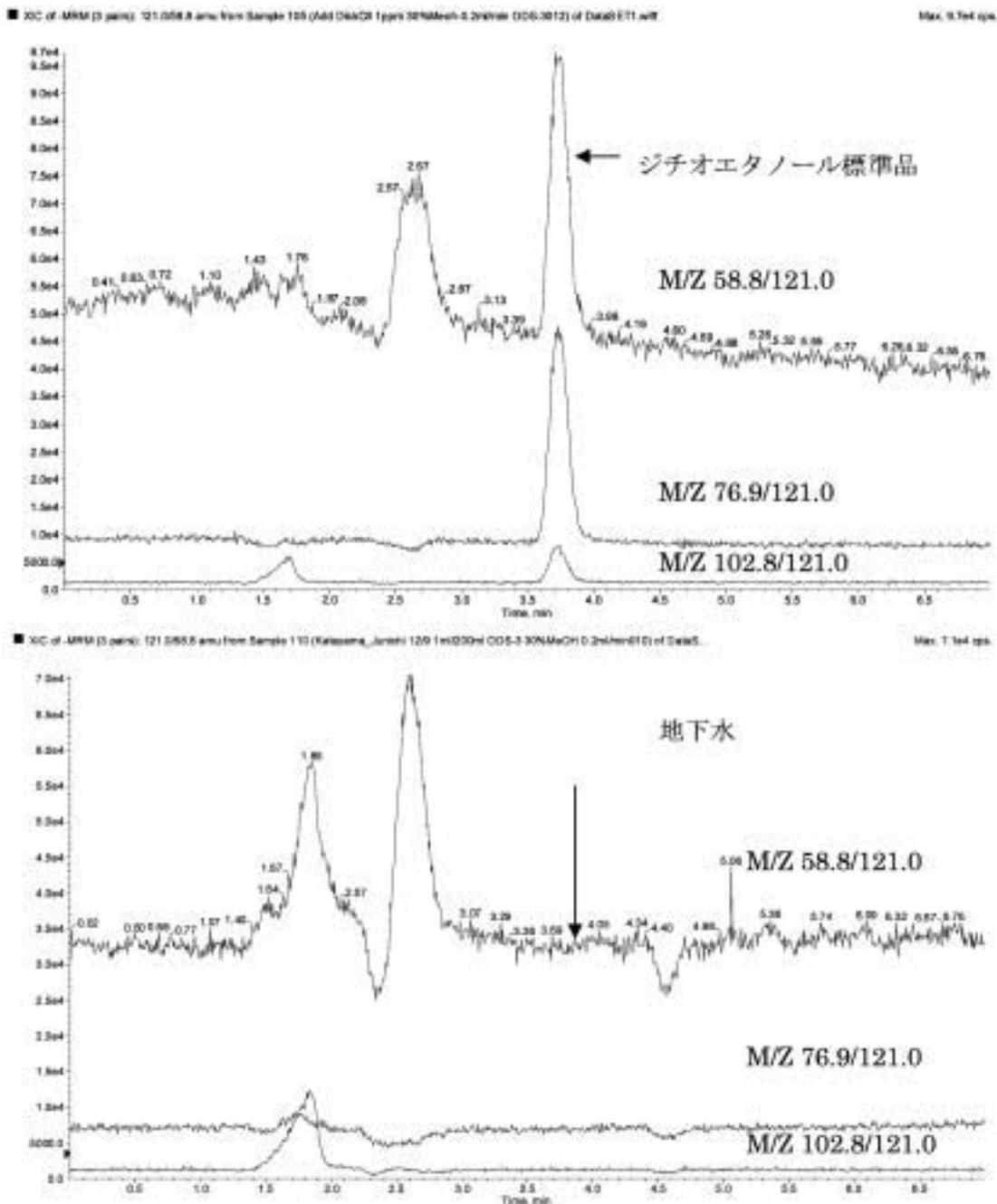


図10 ジチオエタノール標準品及び地下水のLC/MS/MS測定結果

4 まとめ

毒ガス成分である硫黄マスタードの分析は、標準品が入手できないことから、定量分析が不可能なため、その分解物である、チオジエタノールのLC/MS/MSによる定量分析を試み、次に示す結果を得た。

1) チオジエタノールは、LC/MS測定において、ESI-NegativeモードでM-Hイオン(M/Z 121)を検出したが、LC/MSで通常測定されている他の物質と比較して、そのイオン強度は低い傾向を示した。

2) MS/MSモードでは、チオジエタノールは、3個の娘イオン(M/Z 58.8/121.0, M/Z 76.9/121.0, M/Z 102.8/121.0)を生成し、SIMモードに比較して、バックグラウンドの影響を受けにくい測定が可能であった。

3) チオジエタノールは、C8系固相には吸着せず、活性炭カラム(AC-2)に吸着することから、C8系固相に妨害物質を吸着させ、活性炭カラムにチオジエタノールを吸着させる前処理法は、妨害物質の除去に効果的であった。

文 献

- 1) 独立行政法人国立環境研究所，環境省環境安全課：兵器用化学物質の検出法，2003
- 2) 花岡成行，長澤英子，野村昇次，山澤賢：遺棄化学兵器剤関連物質の水質モニタリング法に関わる基礎的検討，第12回環境化学討論会講演要旨集，153 - 154，2003
- 3) 環境庁保健調査室：平成元年度化学物質分析法開発調査報告書（1，4 - ジオキサン：北九州市環境衛生研究所），105 - 114，1990