



Application Note AN-M-015

イオンクロマトグラフィーによる飲料 水中のハロ酢酸、タラホン、臭素酸 の微量分析

Robust analysis with IC-MS/MS according to US EPA 557

概要

飲料水の塩素消毒は病原体の減少に役立ちますが、一方で、ハロ酢酸(HAA)、タラホン、臭素酸などの発がん性の可能性がある副生成物を形成することがあります[1,2]。米国環境保護庁(EPA)およびEUは、5種類のハロ酢酸(HAA5: モノクロロ酢酸 (MCAA)、モノフロモ酢酸 (MBAA)、シクロロ酢酸 (DCAA)、シフロモ酢酸 (DBAA)、トリクロロ酢酸 (TCAA))の合計濃度の最大許容汚染レベルを 60 ppb(60 µg/L)に設定しています[3]。EPA法557では、さまざまな種類の水において、これらの化合物を µg/L レベルで定量する方法が記載されています[4]。このアプリケーションでは、メトロームのイオンクロマトグラフ(IC)をAgilent社のトリプル四重極質量

分析計(MS)に接続して分析を行いました。この高感度な手法では、試料の抽出を必要とせず、メトローム サフレッサモジュールにより溶離液由来の干渉を除去できます。Metrosep A Supp 19カラムを使用することで、対象成分をマトリックス成分から十分に分離できます。すべての分析対象物に対する 1 µg/L のマトリックススハイフ回収率は 65~115% であり、汚染負荷の高い水試料においても良好な結果が得られました。最小報告レベル(MRL)は 0.025~0.25 µg/L でした。このアプリケーションで紹介するIC-MS/MS法は、EPA法557に準拠しています。

サンプルとサンプル前処理

水試料には、スイス東部の水道水、およびミネラルウォーター(エヒアン:炭酸水素イオン濃度 360 mg/L、硫酸イオン濃度 14 mg/L、塩化物イオン濃度 10 mg/L、硝酸イオン濃度 3.8 mg/L)が使用しました。さらに、EPA 557 に基づく合成試料マトリックス(LSSM)〔塩化アンモニウム濃度 100 mg/L、硝

酸イオン濃度 20 mg/L、炭酸水素イオン濃度 150 mg/L、塩化物イオン濃度 250 mg/L、硫酸イオン濃度 250 mg/L〕も分析しました。試料は 0.1% メタノール(v/v)で安定化し、4 ° Cに冷却しました。また、内部標準物質(MCAA-13C および MBA-13C)を 4 µg/L の濃度で添加しました。

実験

HPLC と質量分析(MS)と組み合わせると、一般的に有機分子の研究に焦点を当ててきました。一方で、イオンクロマトグラフィ(IC)と質量分析(MS)を組み合わせることによって、水溶液や塩を含むマトリックス中のイオン性およびより極性の高い物質の高感度分析が可能になります。

冷却機能を有したオートサンプリングシステムである 889 IC Sample Center – cool を使用することで、分解しやすいハロ酢酸(HAA)の劣化を防ぎながら、4 ° C で安定かつ再現性の高い試料処理が保証されます(図1)。



図1. ハロ酢酸 (HAA) 、ダラポン、および臭素酸を測定するための装置構成には、889 IC Sample Center – cool (Metrohm) 、940 Professional IC Vario (Metrohm) 、および Jet Stream Technology イオン源を備えた 6475 トリプル四重極 LC/MS (Agilent) を含みます。メソッドの最適化においては、Dosino を用いて MS への直接注入を行いました。

金属フリーのマイクロホアイオンクロマトグラフ 940 Professional IC Vario(Metrosep A Supp 19 カラム、サフレッサ、IC 伝導度検出器 MB 搭載)は、干渉を受けることなくクロマトグラフィの分離を実現し、ホワイトボリュームを低減しました。

ハロ酢酸の高感度かつ選択的な検出は、Agilent Jet Stream Technology イオン源を備えた Agilent 6475 トリフル四重極 LC/MS を用い、タイナミックマルチフルリアクションモニタリング(dMRM)モードで行いました。また、導電率検出により、フッ化物、塩化物、硝酸塩、硫酸塩などの一般的な陰イオンを並行して定量することが可能です。

さらに、追加の Dosino を使用することで、MS測定条件の最適化のため、標準溶液をMSに直接注入することかてきます。

溶離液自動生成装置 948 Continuous IC Module, CEP は、15~100 mmol/L の水酸化カリウム (KOH)濃度範囲で高精度に溶離液を生成します(図 2)。IC は MagIC Net ソフトウェア、MS は MassHunter ソフトウェアによって操作され、両装置の同期はリモートケーブルでおこないます。表 1に主要な装置設定を示します。



図2. 溶離液自動生成装置 948 Continuous IC Module, CEP は、超純水と KOH 濃縮液から自動的に KOH 溶離液を生成します。電気化学的な溶離液生成は、溶離液生成カートリッジ内の膜で行われます。

表1. IC-MS/MS を用いたハロ酢酸の測定における主要な測定パラメータ

IC Column	Metrosep A Supp 19 - 150/4.0
Eluent/gradient	15 – 100 mmol/L KOH + 10% methanol
Flow rate	0.5 mL/min
Column temperature	15 ° C
Injection volume	100 µL
Suppression	sequential
Ion polarity	negative
Gas flow	12 L/min
Sheath gas flow	12 L/min
Gas temperature	150 ° C
Sheath gas temperature	245 ° C
Detection	dMRM (dynamic Multiple Reaction Monitoring)

結果

この分析手法は、EPA 557 に準拠し、飲料水中のすべての関連するハロ酢酸、臭素酸、およびタラホンを測定することが可能です(表2)。Metrosep A Supp 19 - 150/4.0 カラムを使用し、水酸化物溶離液による分離は、安定かつ再現性のある結果を示しました。この組み合わせにより、高濃度のマトリックスピーク(塩化物、硝酸塩、炭酸水素塩、硫酸塩)と分析対象成分との間で十分な分離が得られました(図3)。また、マトリックス成分はMSでのイオン抑制を防ぐために廃棄ラインへ分流されました。このセットアップのさらなる利点は、溶媒に耐性のあるサプレッサを備えている点です。溶離液に 10%

メタノールを使用すること、水相から気相への移行が促進され、サプレッサに影響を与えることはありません。そのため、分析対象物のMSにおける蒸発を改善するための有機溶媒のホストカラム添加や、二次ホップの使用は不要でした。

0.1–40 µg/L の範囲で二次関数フィットによるキャリブレーションを行った結果、R2値は 0.996–0.999 となりました。最低濃度の最小報告レベル(LCMRL)は、EPA 557 の 9.2.4 章に従って決定しました(表2)。また、7回の繰り返し測定でPIR(予測区間、許容範囲50~150%)の上限及び下限を正常に分析出来ました。

結果

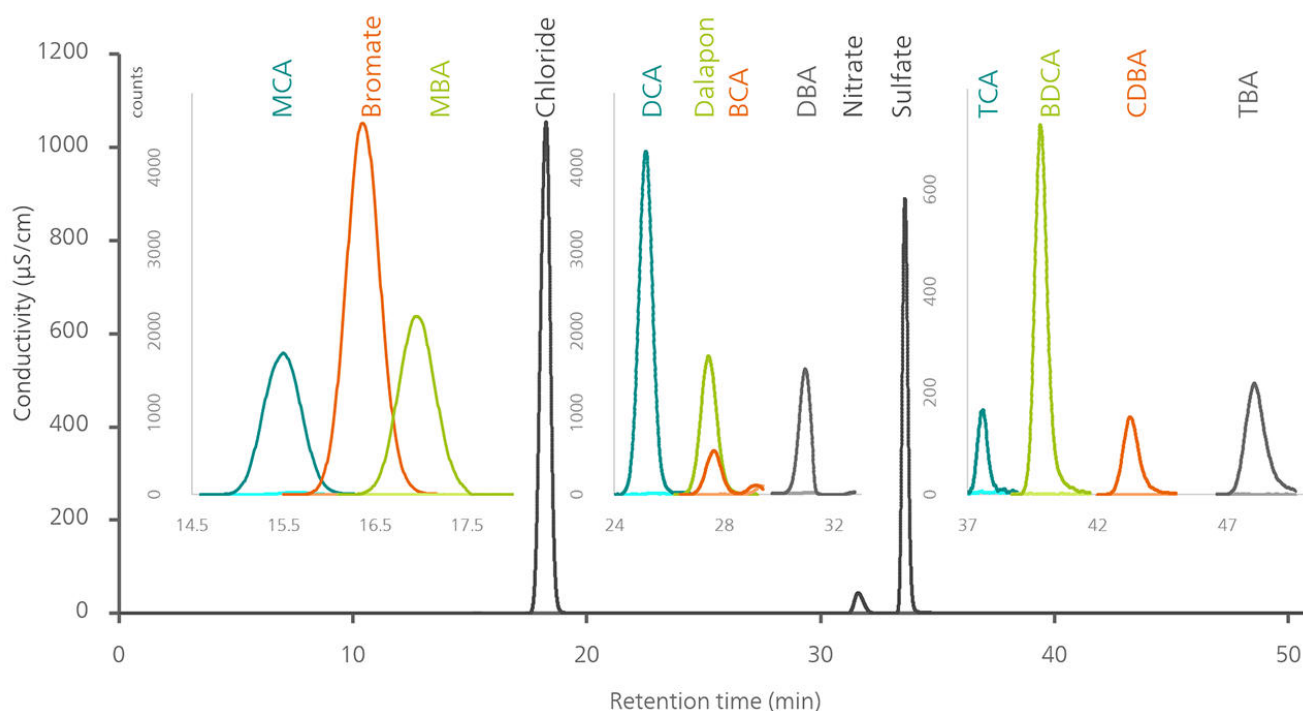


図3. EPA 557に基づく合成試料マトリックス（LSSM）のクロマトグラムのオーバーレイ。LSSMの組成は、塩化アンモニウム濃度 100 mg/L、硝酸塩濃度 20 mg/L、炭酸水素塩濃度 150 mg/L、塩化物濃度 250 mg/L、硫酸塩濃度 250 mg/L（淡色のライン）。さらに、すべての分析対象物を 1 μg/L 添加した LSSM のクロマトグラム（濃色のライン）を重ねて表示。注入量は 100 μL

結果

水試料は希釈なしで直接分析されました。表3に示すように、1 μg/L のスパイク回収率は、LSSM で 65–115%、水道水で 46–112%、エヒアン(ミネラルウォーター)で 87–150% の範囲でした。水道水の繰り返し測定($n = 7$)における相対標準偏差(RSD)は 0.7–6.8% の範囲であり、ミネラルウォーター(エヒアン)($n = 6$)および LSSM($n = 7$)の RSD は、それぞれ 1.6–6.3%、1.0–36.5% でした。ほとんどの値は 5% 以下でしたが、硫酸塩に近い位置で溶出する TCAA ではそれを超える値が見られました。重要な溶出ヘアは DBA/硝酸塩および TCAA/硫酸塩でした。DBAA と TCAA の完全なデータを取得し、

硝酸塩および硫酸塩を廃棄するためには、分流ウィントウの設定を正確に行う必要があります。試料の室温での劣化は 1 日後に確認され、4~5 日後には顕著な劣化が発生しました。そのため、試料は迅速に測定するか、冷却機能付きのオートサンフラー(例: 889 IC Sample Center – cool)を使用する必要があります。

イオンクロマトグラフには Metrohm CO₂ サプレッサー(MCS)を使用しました。これにより導電率のバックグラウンドが改善され、MS における干渉イオンの数が減少しました。

表2. 最低濃度の最小報告レベル(LCMRL)の決定は、EPA 557 の 9.2.4 章に従い、最小報告レベル(MRL)の確認として実施しました。上限および下限の PIR(予測区間、許容範囲 50–150%)について、7つの試料を分析しました。※ 0.025 µg/L 未満の濃度は試験されていませんが、シグナル対ノイズ比(S/N 比)は 10 を超えており、最小限界には達していないことが示されました。

分析対象物	略語	保持時間 [min]	前駆体 <i>m/z</i>	物質 <i>m/z</i>	最小報告レベルの濃度 [µg/L]	PIR 範囲 [%]
モノクロロ酢酸	MCA A	15.8	93	34.9	0.025*	91 – 109
モノフロモ酢酸	MBA A	17.2	137	79	0.025*	88 – 112
臭素酸	BrO ₃	16.7	127	111	0.025*	84 – 116
シクロロ酢酸	DCA A	25.6	127	83	0.025	84 – 116
タラホン	DAL	28.0	141	97	0.025	74 – 126
フロモクロロ酢酸	BCAA	28.0	173	81	0.05	74 – 126
シフロモ酢酸	DBA A	31.4	217	173	0.025	75 – 125
トリクロロ酢酸	TCAA	37.9	161	117	0.25	62 – 131
フロモシクロロ酢酸	BDCA A	40.2	163	81	0.025	79 – 121
クロロシフロモ酢酸	CDBA A	43.5	207	79	0.025	52 – 148
トリフロモ酢酸	TBAA	49.1	251	79	0.025	62 – 138

3.3 1 µg/L IC-MS/MS ±0.1 µg/L 6

1 g/L [g/L]			
	()	(Evian)	LSSM (EPA 557)
MCAA	1.12	1.41	1.15
MBAA	1.00	0.97	0.87
BrO ₃ ⁻	0.88	0.86	0.84
DCAA	0.88	1.03	0.80
DAL	0.88	0.93	0.76
BCAA	0.87	0.87	0.71
DBAA	0.88	1.22	0.79
TCAA	0.46	1.50	0.65
BDCAA	0.89	0.91	0.87
CDBAA	0.88	1.00	0.88
TBAA	0.88	1.43	0.84

EPA 557 [4] Agilent MS

5 () g/L EPA 557[4] EU [5]

1. Zhao, H.; Yang, L.; Li, Y.; et al. Environmental Occurrence and Risk Assessment of Haloacetic Acids in Swimming Pool Water and Drinking Water. *RSC Adv* 10 (47), 28267–28276. DOI:10.1039/d0ra02389b
2. Sinha, R.; Gupta, A. K.; Ghosal, P. S. A Review on Trihalomethanes and Haloacetic Acids in Drinking Water: Global Status, Health Impact, Insights of Control and Removal Technologies. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2021, 9 (6), 106511. DOI:10.1016/j.jece.2021.106511
3. US EPA, O. *National Primary Drinking Water Regulations*. <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations> (accessed 2022-09-19).
4. United States Environmental Protection Agency. Method 557: Determination of Haloacetic Acids, Bromate, and Dalapon in Drinking Water by Ion Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (IC-ESI-MS/MS). *EPA Document No. 815-B-09-012* 2009.
5. *Directive - 2020/2184 - EN - EUR-Lex*. <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2020/2184/oj> (accessed 2024-03-11).

CONTACT

143-0006 6-1-1
null 9

metrohm.jp@metrohm.jp

装置構成



940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP/MB

940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP は連続サフレーション(1チャンネル)とサフレッサー再生のためのヘリスタリックポンプを備えた2チャンネルタイプのIC装置です。この装置は任意の分離メソッドおよび検出メソッドによって使用することかできます。

典型的な使用領域:

- 陰イオンおよび陽イオンの並行測定のための標準装置
- 陰イオンおよび陽イオンのための微量分析
- 陰イオンおよび陽イオンのためのオンラインモニタリング
- マイクロホア (2mm) アプリケーション向けに最適化、カップリンク技術 (IC-MS または IC-ICP/MS)に最適

MagIC Net 4.1 以上に対応



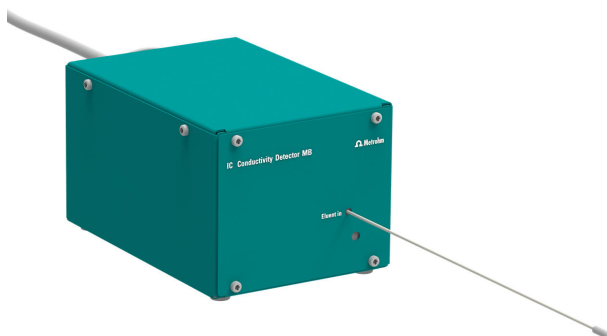
Metrosep A Supp 19 - 150/4.0

卓越した分離特性と高静電容量 – これか、Metrosep A Supp 19 製品群をカラムポートフォリオから明確に際立たせている理由です。最高のピーク対称性と選択性、そして高い熱的、機械的、化学的安定性を特徴とし、より高い流速と圧力に対して非常に堅牢で安定したものとなっています。

150 mmのハリエーションは、最も多くの用途を安全に解決し、汎用性が高いため、陰イオンクロマトグラフィーの標準カラムと見なされています。

Metrosep A Supp 19 - 150/4.0 分離カラムは、その高い容量により、要求の厳しいマトリックスを含む複雑な用途にも特に適しています。Metrosep A Supp 19 - 150/4.0 の応用分野は、その優れた分離特性から非常に多岐にわたり、例えば以下のような用途があります：

- 多種多様な水サンプル中の標準的な陰イオン (フッ化物、塩化物、亜硝酸塩、臭化物、硝酸塩、リン酸塩、硫酸塩) の測定。
- 環境サンプルや食品サンプルなどの複雑なサンプルマトリックス中の標準的な陰イオンと有機酸の測定。
- 発電所の安全な運転を確保するためのホイラー給水中の標準陰イオンと有機酸の測定。
- 医薬品サンプル中の標準的な陰イオンの測定。



IC Conductivity Detector MB

インテリシエントIC装置のためのコンハクトかつインテリシエントな高出力電気伝導度検出器。マイクロホアカラム向けに最適化。優れた温度安定性、保護された検出器ブロック内の総合的な信号処理、最新版の DSP (Digital Signal Processing) が高精度の測定を保証します。稼動範囲がダイナミックなので測定範囲の変更は(自動のものも含めて)不必要です。

典型的な使用領域:

- 電気伝導度検出器による、化学的サフレーションまたは連続的な化学的サフレーションのある、もしくはサフレーション無しの陰イオンおよび陽イオンの測定
- マイクロホア (2mm) アプリケーション向けに最適化、カップリンク技術 (IC-MS または IC-ICP/MS) に最適

仕様概要:

- 0~15000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 、エリアの切り替えなし
- セル容量: 0.3 μL
- リンク状のステンレス製電極 X2CrNiMo17-12-2 (316 L)、MSA と互換
- 最大運転圧力: 10.0 MPa (100 バー)
- セル温度: 20~50° C、5° C 刻み
- 温度安定性: < 0.001° C
- ヘースラインノイズ: < 0.2 nS/cm、連続サフレーションの平均値
- キャピラリー: ID 0.18 mm

MagIC Net 4.1以上に対応



889 IC Sample Center – cool

889 IC サンプルセンタ – cool は、使用できるサンプルがごく少量である場合の適切なオートメーションのソリューションです。889 IC サンプルセンタに対して本製品は更に冷却機能を有しているため、生化学的に重要な、または熱化学的に不安定なサンプルに最適なサンプルチェンジャーです。