[APPLICATION NOTE]

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

UPLC/MS (/MS) を用いた(クロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸の測定

アプリケーション・ベネフィット

- 従来の GC/MS 法で必要とされていたジアゾメタンによる誘導体化を省略した測定が可能
- 各ハロ酢酸の基準値の1/10を高感度に検出が可能
- 基準値の1/10 での変動係数も 5% 以内の良好な測定が可能
- 同一条件で項目外の6種のハロ酢酸が同時測定可能
- 他項目(農薬類等)の分析系と機器システムを共用する事が可能

ウォーターズソリューション

ACQUITY UPLC ® H-Class

Xevo ™ TQD

ACQUITY UPLC ® HSS T3

キーワード

水道水

水質基準に係る検査の方法

ハロ酢酸

パブリックコメント制度

新規追加検査法

はじめに

水道水の水質基準については、検査方法告示において、水質基準の各検査事項に係る検査方法が規定されています。
この中で水質基準項目に指定されているハロ酢酸は、ジアゾメタン誘導体化GC/MS法が採用されていますが、前処理が煩雑であることなどから、誘導体化せずに直接分析できるLC/MS(MS/MS)法が2011年11月18日公示のパブリックコメントに新規追加試験法(案)として追加されました。

このアプリケーションノートでは、新規追加試験法に準拠した分析法を開発・検証し、その結果について紹介します。

表 1 水道水質基準に関する省令

項目	基準
クロロ酢酸	0.02 mg/L 以下である事
ジクロロ酢酸	0.04 mg/L 以下である事
トリクロロ酢酸	0.2 mg/L 以下である事

図1. ACQUITY UPLC H-Class とXevo TQD

分析条件

LC 条件

LC システム: ACQUITY UPLC H-Class

分析時間: 6.0 分

カラム: ACQUITY HSS T3
1.8 µm, 2.1 x 100 mm

カラム温度: 40 ℃

移動相 A: 0.2% ギ酸水溶液

移動相 B: アセトニトリル

流速: 0.5 mL / min

注入量: 20 µL

グラジエント:

Time	%A	%B	Curve
0.0	99	1	
1.5	80	20	6
3.0	10	90	6
3.5	99	1	11

MS 条件

MS システム: Xevo TQD

イオン化モード: ESI negative

分析モード: SIM,MRM

キャピラリー電圧: 0.5 kV

ソース温度: 120 ℃

脱溶媒温度: 350 ℃

脱溶媒ガス: 1000 L/hr

コーンガス: 30 L/hr

SIM

化合物	モニターイオン	コーン電圧
クロロ酢酸	93	30
ジクロロ酢酸	127	17
トリクロロ酢酸	161	10

MRM

化合物	プリカーサイオン	コリジョンエネルギー	プロダクトイオン
クロロ酢酸	93	7	35
ジクロロ酢酸	127	7	83
トリクロロ酢酸	161	10	117

実験

標準溶液

市販のクロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸標準原液をメタノールで 10mg/L に希釈後、精製水で適宜希釈し、0.002～0.2mg/L の検量線用標準溶液を調製した。

イオンサプレッションの検証

① 上水添加サンプル
上水：標準溶液を 9:1 の割合で混合し、各ハロ酢酸濃度が 20ug/L となるよう調製した。

② アスコルビン酸含有添加サンプル
残留塩素の除去に使用されるアスコルビン酸の影響を検証するため、アスコルビン酸を含有する添加サンプルを調製した。
0.05g/L-アスコルビン酸水溶液：標準溶液を 9:1 の割合で混合し、各ハロ酢酸濃度が 20ug/L となるよう調製した。

③ 硝酸・亜硝酸態窒素含有添加サンプル
検水に含有する硝酸態窒素の影響を検証するため、硝酸態及び亜硝酸態窒素を含有する添加サンプルを調製した。
硝酸および亜硝酸態窒素各12mg/L 含有水溶液：標準溶液を 9:1 の割合で混合し、各ハロ酢酸濃度が 20ug/L となるよう調製した。

結果及び考察

分離及びカラムへの保持

高圧での使用が可能な 1.8 µm ハイストレングスシリカ（HSS）パーティクルのODSカラムを使用する事で、高い保持で良好なピーク形状のクロロ、ジクロロ及びトリクロロ酢酸の分離が得られました。本法を用いる事で、カラム平衡化時間を含め、6 分以内で低pH条件下での安定した測定が可能です。

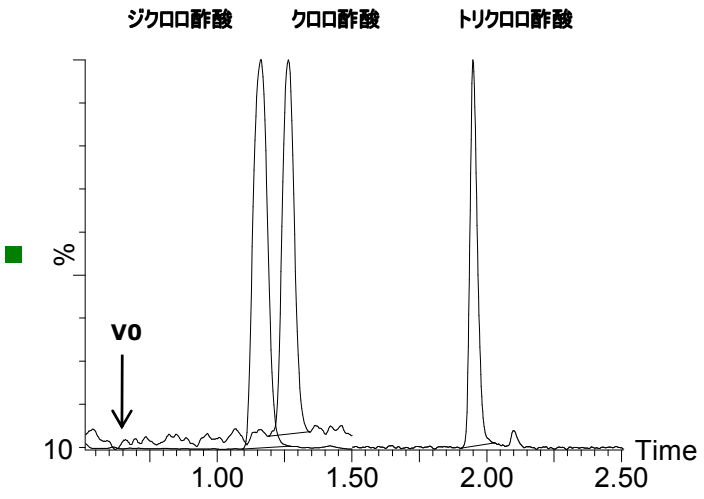

図2. 基準値濃度のクロロ、ジクロロ及びトリクロロ酢酸標準溶液のSIM

検出感度及び繰返し再現性

図3. に基準値濃度の 1/10 のクロロ、ジクロロ及びトリクロロ酢酸標準溶液のSIM を示しました。

精製水で各クロロ酢酸を基準値濃度の 1/10 にまで希釈された標準溶液でも S/N が 10 以上の良好な感度で検出されました。

この結果より本法での LOQ（定量下限）が、基準値濃度の 1/10 以下で、充分な定量測定に使用可能である事が確認されました。

表2 に各ハロ酢酸の基準値濃度の 1/10 の面積値・濃度の平均と標準偏差、変動係数を示しました。いずれのハロ酢酸類も変動係数は 5% 以下の良好な値が得られました。

本法を用いる事で、高い保持で安定した分離・高感度で再現性の高い測定が可能です。

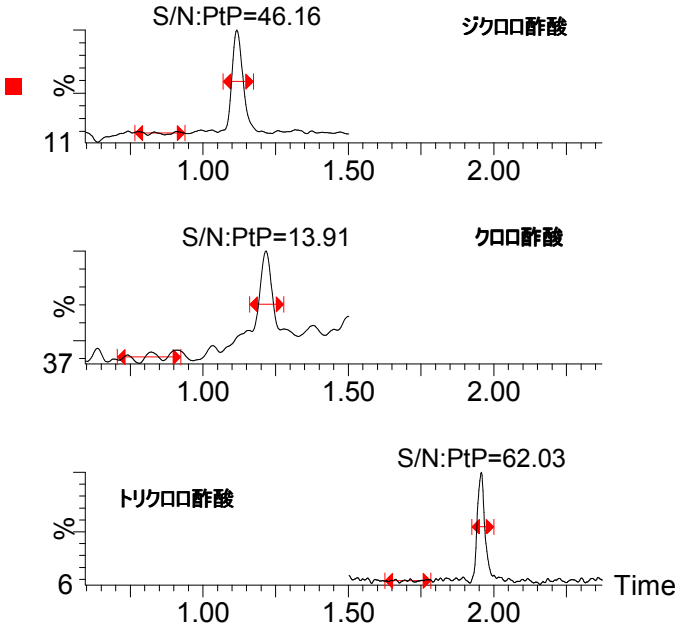

図3.　基準値濃度の 1/10 のクロロ、ジクロロ及びトリクロロ酢酸標準溶液のSIM

表2　基準値濃度の 1/10 のクロロ、ジクロロ及びトリクロロ酢酸標準溶液の n=7 における 繰返し再現性

	クロロ酢酸		ジクロロ酢酸		トリクロロ酢酸	
	面積	濃度	面積	濃度	面積	濃度
平均	91.7	2.0	829.6	4.0	103.1	18.7
標準偏差	2.0	0.1	8.0	0.0	4.5	0.9
変動係数	2.1	2.7	1.0	1.2	4.4	4.6

定量直線性

図4. に各ハロ酢酸の 0.002 - 0.2 mg / L における7点検量線を示しました。
いずれのハロ酢酸も r^2>0.99 の良好な直線性が得られました。

イオンサプレッションの検証

マトリックスによるイオンサプレッションの影響を検証するため、

① 上水
② アスコルビン酸ナトリウム
③ 硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素

の3 種のマトリックスにハロ酢酸濃度が 20 μg / L となる様に標準添加、その回収率を 表3 に示しました。

いずれのハロ酢酸も標準溶液と同様の良好なピーク形状で分離・検出され、その回収率も93 -107 % と適切な値を示しました。

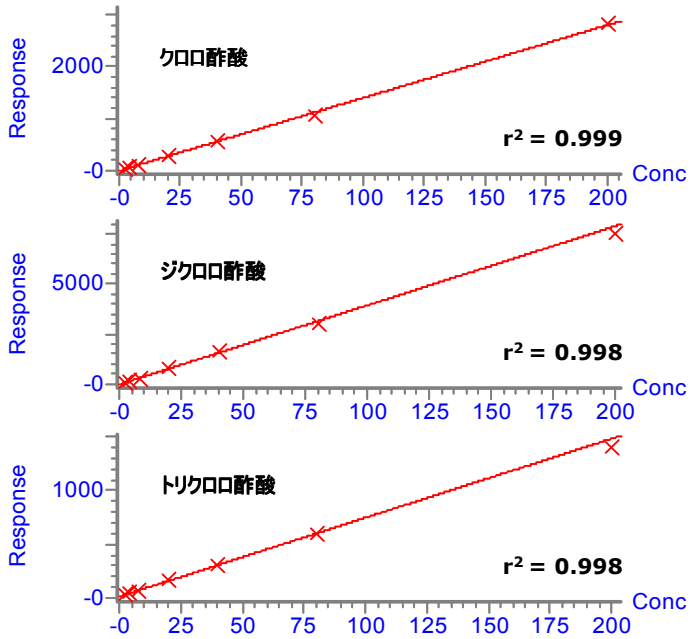

図4.各ハロ酢酸の検量線 （ SIM, 0.002 - 0.2 mg / L ）

表3　20 μg / L のクロロ、ジクロロ及びトリクロロ酢酸標準添加の各マトリックス溶液の回収率

	回収率 （%）		
マトリックス	クロロ酢酸	ジクロロ酢酸	トリクロロ酢酸
硝酸態及び亜硝酸態窒素	103.5	103.5	100.5
アスコルビン酸ナトリウム	93.7	98.6	93.0
上水	104.6	101.0	107.0

LC/MS/MS (SRM)

今回の検査方法に関してパブリックコメント制度より新規追加検査法（案）では、SIM に加え、検出器の項に「選択反応測定（SRM）又はこれと同等以上の性能を有するもの。」との記載がある事から、SIM と同様に SRM による検証を併せて行いました。

図5. に基準値濃度の 1/10 のクロロ、ジクロロ及びトリクロロ酢酸標準溶液の SRM を示しました。
SIM 同様に、精製水で各クロロ酢酸を基準値濃度の 1/10 にまで希釈された標準溶液でも S/N が 20 以上の良好な感度で検出されました。

本測定条件では対象項目の3種のハロ酢酸の他に6種の項目外ハロ酢酸の同時測定が可能です。
図6. に同時測定した全9種ハロ酢酸標準溶液のSRM を示しました。

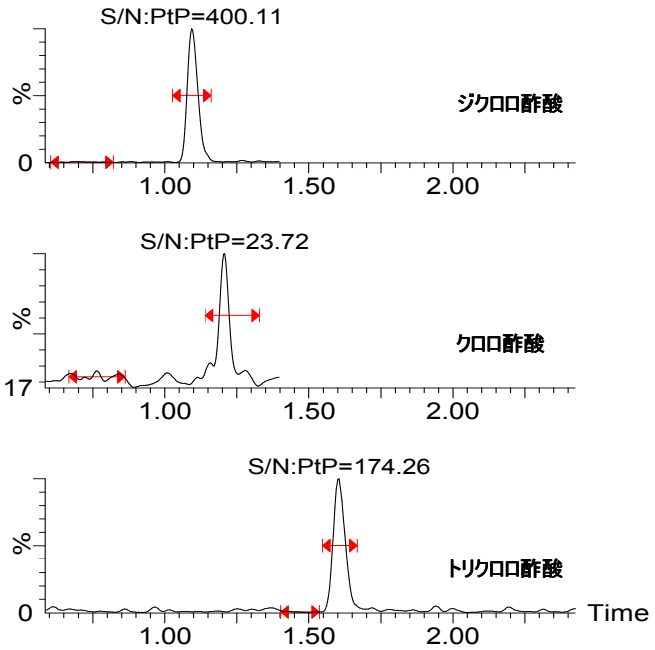

図5.　基準値濃度の 1/10 のクロロ、ジクロロ及びトリクロロ酢酸標準溶液のSRM

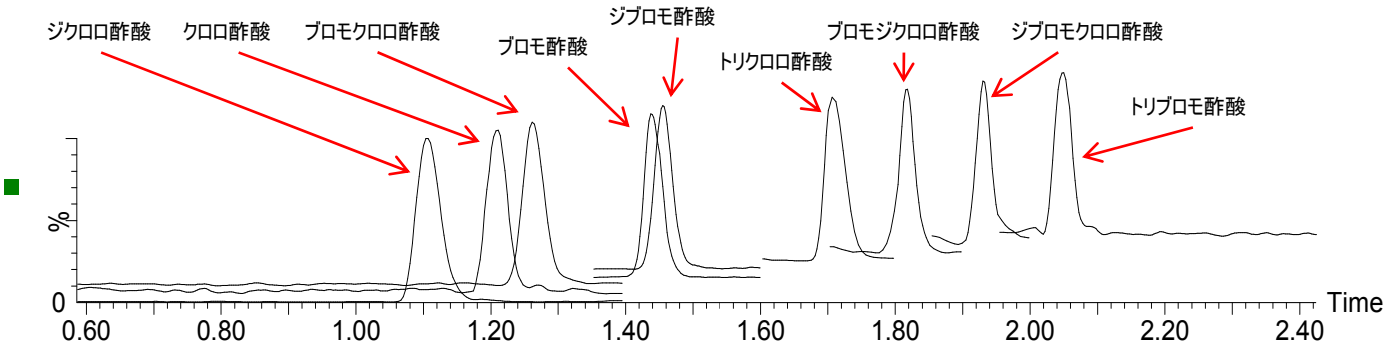

図6.　9種ハロ酢酸標準溶液のSRM

結論

- 本システムを用いる事で、従来の GC/MS 法で必要とされていたジアゾメタンによる誘導体化を省略した「クロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸」の高感度測定が可能となりました。
- 各クロロ酢酸を基準値濃度の 1/10 にまで希釈された標準溶液でも SIM,SRM 共にS/N が 10 以上の良好な感度で検出されました。
- 基準値濃度の 1/10 のクロロ、ジクロロ及びトリクロロ酢酸標淳溶液の n=7 における変動係数も 5% 以下の良好な値を示しました。
- 上水、残留塩素が含まれている場合に添加されるアスコルビン酸ナトリウム及び検水に含有されている可能性のある硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素の存在下でも、標準溶液と同様の良好なピーク形状で分離・検出され、その回収率も93 -107 %　と適切な値を示しました。
- 同一条件で SRM を用いて、2 – 200 µg / L の項目外の6種のハロ酢酸の同時測定が可能となりました。

参考資料

「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」、「資機材等の材質に関する試験」及び「給水装置の構造及び材質の基準に係る試験」の一部改正案について

Waters、ACQUITY UPLC および UPLC は Waters Corporation の登録商標です。
MassLynx、TargetLynx および The Science of What's possibleはWaters Corporation の商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

©2012年3月　Produced in Japan. 2012010002J PDF

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社　www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12 第5小池ビル
TEL 03-3471-7191　FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル 11F
TEL 06-6304-8888　FAX 06-6300-1734
ショールーム　東京　大阪
テクニカルセンター　東京　大阪　名古屋　福岡　静岡