



定量分析の未来： 水中の過塩素酸の定量分析にIC-MS/MSを用いた 堅牢で再現性の高いワークフロー

著者

Neloni Wijeratne, Claudia Martins,
Jonathan Beck,
Thermo Fisher Scientific,
San Jose, CA

Debadeep Bhattacharyya,
Thermo Fisher Scientific,
Boston, MA

Beau Sullivan, Tae Pak,
Andrey Khorst,
Santa Clara Valley Water District,
San Jose, CA

キーワード

過塩素酸、EPA メソッド 332.0、
IC-MS/MS、トリプル四重極質量分析計、
TSQ Fortis 質量分析計、
定量ワークフローソリューション

目的

トリプル四重極質量分析計 (MS) を使用した、堅牢かつ信頼性があり、再現性の高いワークフローソリューションを開発し、水中の過塩素酸の定量分析を簡易に実施する。

アプリケーションの利点

- イオンクロマトグラフィー (IC) と Thermo Scientific™ TSQ Fortis™ トリプル四重極質量分析計 (QqQ) を使用することで、水中の過塩素酸の定量分析のための堅牢なワークフローを開発できます。
- 堅牢で高性能かつ高感度の QqQ を活用することで、あらゆる分析環境でサンプルあたりのコストを抑えることができます。

はじめに

現在、世界的にみると清浄な飲料水はますます不足しています。汚染された飲料水により、人の健康に長期的な被害が及ぶおそれがあります。きれいな飲料水を供給するためには、機械的手段による浄水だけでなく、消毒も重要な役割を果たします。高い水質を確保するために、飲料水に対しては広範な除染工程が実施されていますが、飲料水の汚染を原因とする重大な健康被害は引き続き発生しています。1997年、

米国西部で水道水から低濃度 (50 ng/mL または 50 ppb 未満) の過塩素酸が検出されて以来、米国内の各所で検出が確認されています。当時、環境保護庁 (EPA) は、飲料水中の過塩素酸に関する規制を設けていませんでしたが、過塩素酸を汚染物質候補リスト (CCL) に登録し、未規制汚染物質監視規則 (UCMR) の対象物質としました。¹

環境化学に限らず、過塩素酸の測定手法の必要性は高まっています。過塩素酸塩は、欧州ではバセドウ病やアミオダロン誘発性甲状腺中毒症の治療など医学的に利用されています。過塩素酸アンモニウムは、花火、非常発煙筒、ロケット、ロケットブースター、大陸間弾道ミサイルの固体酸化剤としても使用されています。したがって、品質管理、品質保証の観点から、水源中の過塩素酸をモニタリングする手法が必要です。さらに法化学分野では、爆発物や爆発残渣の解析において、過塩素酸の定量が重要になっています。飲料水から農地流出水、肥料、フルーツジュース、生理液、植物抽出液に至るまで、幅広いマトリックスが分析対象になるにつれて、干渉のリスクは高まります。

飲料水中の汚染物質、特に極性化合物の分析手法は複数ありますが、過塩素酸を対象とした EPA メソッド 314 は、塩化物や硝酸など分析時に干渉する高濃度のマトリックスを伴います。しかし、LC-MS や LC-MS/MS を使用すれば、過塩素酸定量における誤検出をなくすることができます。液体クロマトグラフィー (LC) とトリプル四重極質量分析計 (MS/MS) を組み合わせることで、非常に特異的で選択的な質の高い情報を得られます。ただし、一般に LC は非極性化合物の分析に最適な手法であり、極性化合物を扱うことは困難です。そのため、サンプルの誘導体化が必要になりますが、時間がかかる上に、短期間で確実に結果を出すことがいっそう難しくなります。この点で、極性化合物の分析が可能なイオンクロマトグラフィー (IC) は大きなメリットをもたらします。本アプリケーションノートでは、飲料水中の過塩素酸を評価するための、IC-MS/MS を用いた堅牢で信頼性と再現性の高い IC-MS/MS 定量分析について報告します。なお、分析では、Thermo Scientific™ Dionex™ ICS-6000 HPIC™ システム、Thermo Scientific™ TSQ Fortis™ トリプル四重極質量分析計、Thermo Scientific™ TraceFinder™ 4.1 ソフトウェアを使用しました。

実験

サンプル調製

サンタクララバレー水道区 (SCVWD) が調製した検量線用標準液 4 µg/L、10 µg/L、20 µg/L、50 µg/L と ERA 品質管理サンプルを使用しました。サンプルの調製には、Milli-Q® 水 (Millipore Sigma) を使用しました。すべての水サンプルに、防腐剤として塩化アンモニウム (NH₄Cl) 100 mg/L を添加した他は、注入前サンプルの調製や前処理を行っていません。

イオンクロマトグラフィー

分析装置は、Dionex ICS-6000 HPIC システムを使用しました。サンプルの前処理は不要であるため、そのまま注入しました。サンプル 100 µL を Thermo Scientific™ Dionex™ IonPac™ AS20 カラム (2 × 250 mm) に注入しました。また、Dionex IonPac AG20 ガードカラム (2 × 50 mm) と Thermo Scientific™ Dionex™ ADRS 600 電解再生サブレッサー (2 mm) を使用しました。Dionex ICS-6000 HPIC システムの溶離液ジェネレーターで KOH を自動調製し、移動相として 300 µL/min で送液しました。メソッド実行中、KOH 濃度は 75 mM に維持しました (イソクラティック分析)。質量分析計イオン源における溶離液の噴霧を容易にするために、イソプロピルアルコールを 200 µL/min で T 字配管から溶離液にポストカラム添加し、サブレッサー再生のために、Thermo Scientific™ Dionex™ AXP 補助ポンプを使用して、600 µL/min で水を供給しました。カラム温度は 15°C に維持しました。各分析の実行時間は 15 分とし、それぞれの濃度で 7 回注入を行いました。

質量分析

本分析では、過塩素酸を検出するために、TSQ Fortis トリプル四重極質量分析計を使用しました。また、エレクトロスプレーイオン化 (HESI) モードですべての化合物を分析しました。実験条件として、エレクトロスプレー電圧を最適化し、サイクル時間 2 秒、Q1 分解能を 0.7 Da FWHM に設定しました。メソッド開発では、標準物質を質量分析計に注入して、プロダクトイオンを得るための最適なチューブレンズ設定とコリジョンエネルギーを設定しました。すべての分析物の SRM 条件とその他の重要な MS 特性を表 1 に示します。

ソフトウェア

Thermo Scientific™ TraceFinder™ ソフトウェア version 4.1 を使用してデータを取得、処理しました。

結果と考察

SCVWD から入手した検量線標準液 4 µg/L と 10 µg/L を、表 2 のとおり希釈しました。

表1. 過塩素酸の最適なトランジション 各サンプルの保持時間は9.55分
EPAメソッドにしたがい、パラメーターを最適化

化合物	プリカーサーイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)	コリジョンエネルギー (V)	チューブレンズ (V)	ソースフラグメンテーション (V)
Perchlorate_99	99	66.9	36	78	8
Perchlorate_99	99	82.9	25	78	8
Perchlorate_101	101	68.9	36	78	8
Perchlorate_101	101	84.9	25	78	8

表2. 標準物質4 µg/Lと10 µg/LをMilli-Q水で希釈した延長検量線

検量線標準	希釈元 (µg/L)	採取液量 (mL)	最終液量 (mL)	濃度 (µg/L)
標準1	標準2	5.0	10.0	0.002
標準2	標準3	1.0	10.0	0.004
標準3	標準4	1.0	10.0	0.01
標準4	標準5	1.0	10.0	0.04
標準5	標準6	1.0	10.0	0.1
標準6	4.0	1.0	10.0	0.4
標準7	10.0	1.0	10.0	1.0

SCVWD から入手した検量標準物質より、過塩素酸をプリカーサーイオン ($m/z=99$) とする検量線を作成しました (図 1)。

すべての検量線標準液と QC サンプルの濃度を計算した結果 (表 3)、ばらつきは十分に許容範囲に収まりました。

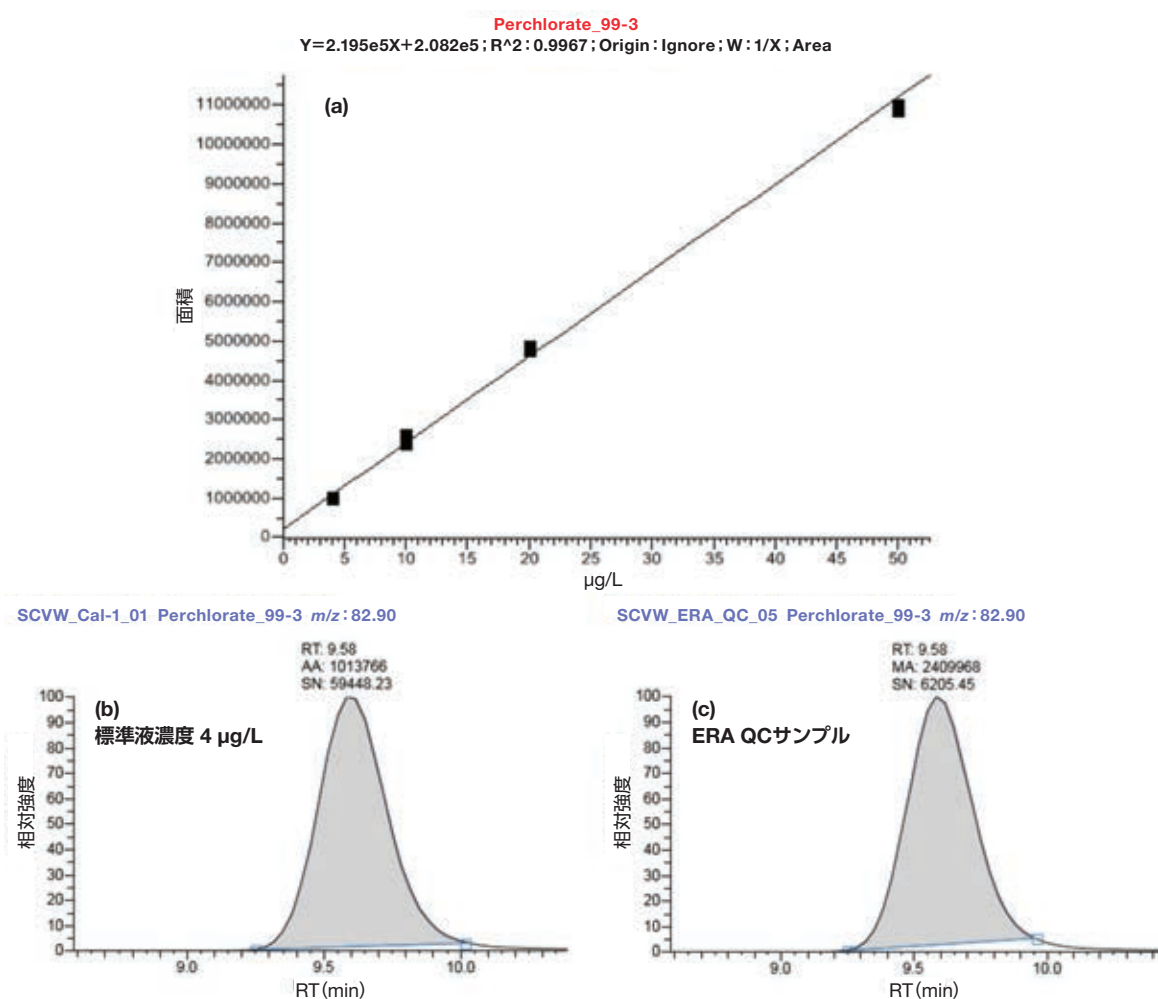


図1. (a) SCVWDが調製した検量線標準液から作成した検量線 (4 µg/L~50 µg/L)、(b) 最低濃度4 µg/Lにおけるクロマトグラム、(c) ERA QCサンプル (プリカーサーイオン $m/z=99$) のクロマトグラム

表3. 検量線標準液およびQCサンプルの濃度計算値とばらつき (%RSD)、過塩素酸 ($m/z=99$) をプリカーサーイオンとする

サンプル	濃度計算値 (µg/L)	%RSD
標準1	3.7	1.22
標準2	10.6	1.73
標準3	20.8	0.60
標準4	48.9	0.84
QC	10.5	1.19

各濃度で7回注入を行った。

さらに希釈した検量線標準液 0.002 µg/L、0.004 µg/L、0.01 µg/L のクロマトグラムを図 2 に示します。

データをプロットして得た検量線は、 $R^2 \geq 0.98$ 、変動係数 (%CV) < 15% を満たさなければなりません。また、各サンプルの精度 (%) とイオン比は ± 20% の範囲内に収まらなけれ

ばなりません。許容される要求 SN 比を最小閾値の 3 : 1 としました。表 4 に示すとおり、サンプルの範囲を拡大して、プリカーサーイオン ($m/z = 99$) の延長した検量線を得ました。この検量線で、各サンプルのばらつき (%RSD) は 5% 未満、SN 比は 3 を上回りました。ばらつきを計算するために、標準 3 から 11 は 7 回、標準 1、2 は 4 回注入を行いました。

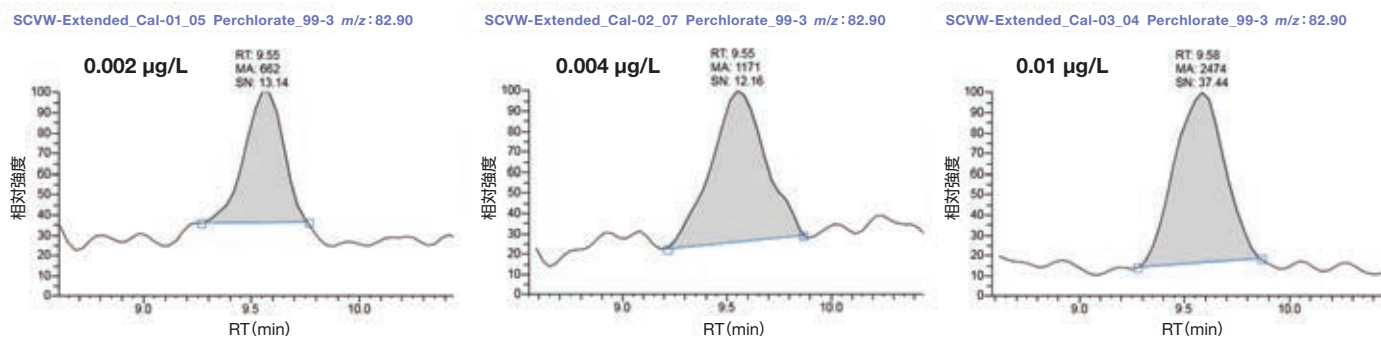


図2. 水サンプル中の極低濃度の過塩素酸のクロマトグラム、プリカーサーイオン $m/z = 99$
過塩素酸濃度 : 0.002 µg/L (左) 、0.004 µg/L (中央) 、0.01 µg/L (右)

表4. 水中の過塩素酸イオンの延長検量線、プリカーサーイオン $m/z = 99$

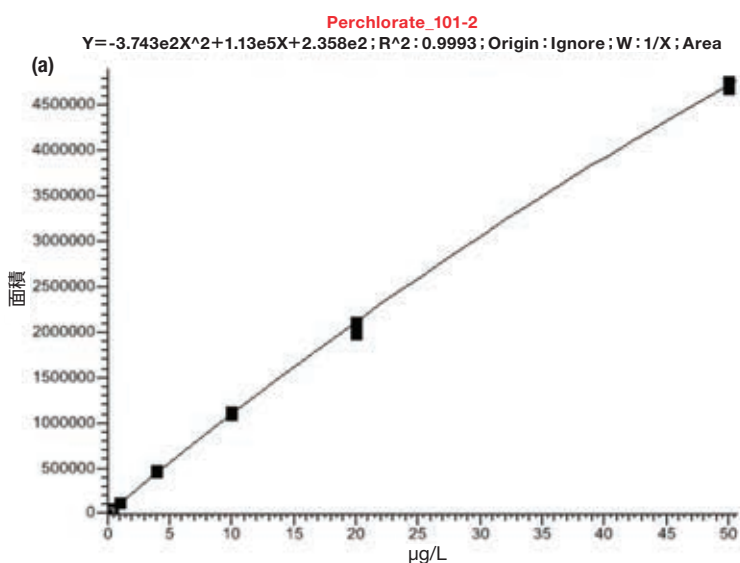
サンプル	濃度計算値 (µg/L)	%RSD	S/N
標準1	0.002	4.6	>3
標準2	0.004	3.5	>3
標準3	0.01	3.4	>3
標準4	0.04	2.0	>3
標準5	0.10	1.8	>3
標準6	0.41	2.5	>3
標準7	1.0	1.3	>3
標準8	4.1	1.2	>3
標準9	10.2	1.1	>3
標準10	19.6	1.0	>3
標準11	50.2	0.7	>3
QC	10.1	0.7	>3

プリカーサーイオン $m/z = 99$ と同様に、プリカーサーイオン $m/z = 101$ の延長検量線も $R^2 \geq 0.98$ と良好な直線性を示しました。標準3から11では、7回の注入でばらつき (%RSD) が4%未満、SN比が3を上回りました(表5)。最低標準濃

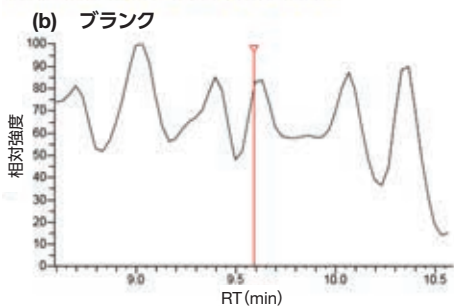
度 $0.002 \mu\text{g/L}$ と $0.004 \mu\text{g/L}$ は、それぞれ3回、4回の注入でばらつきを計算しました。いずれもSN比は3を上回りました(図3)。

表5. 水中の過塩素酸イオンの延長検量線、プリカーサーイオン $m/z=101$

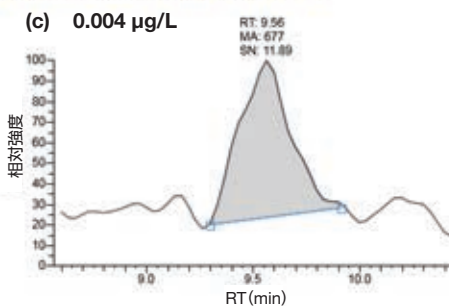
サンプル	濃度計算値 ($\mu\text{g/L}$)	%RSD	S/N
標準1	0.002	1.8	>3
標準2	0.004	2.3	>3
標準3	0.01	3.7	>3
標準4	0.04	4.0	>3
標準5	0.10	3.5	>3
標準6	0.42	2.9	>3
標準7	1.0	1.5	>3
標準8	4.1	1.4	>3
標準9	10.2	1.1	>3
標準10	19.3	2.8	>3
標準11	50.3	0.5	>3
ERA-QC	9.94	1.5	>3



SCVW-Extended_Blank_1_04 Perchlorate_101-2 $m/z: 85.00$



SCVW-Extended_Cal_02_03 Perchlorate_101-2 $m/z: 85.00$



SCVW-Extended_Cal_03_07 Perchlorate_101-2 $m/z: 85.00$

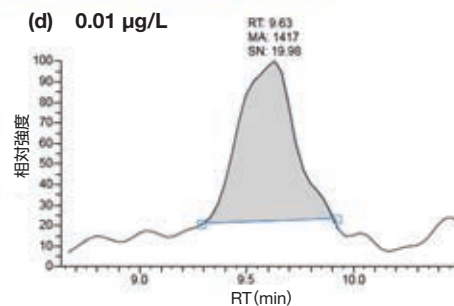


図3. (a) 検量線 ($0.002 \mu\text{g/L} \sim 50 \mu\text{g/L}$)、(b) クロマトグラム (ブランク)、(c) クロマトグラム ($0.004 \mu\text{g/L}$)、(d) クロマトグラム ($0.01 \mu\text{g/L}$)、いずれもプリカーサーイオン $m/z=99$

まとめ

特に飲料水に含まれる過塩素酸は、重大な健康問題を引き起こすおそれがあります。水中に存在する汚染物質はますます複雑化しており、過塩素酸を確実に分析、定量するためには、複数の課題が伴うと考えられます。溶離液ジェネレーター付きのイオンクロマトグラフィーシステムとTSQ Fortis 質量分析計を組み合わせることで、堅牢かつ迅速に、高い再現性と感度で水中の過塩素酸を定量できる、強力なプラットフォームソリューションを得られます。

SCVWDから入手した検量標準物質は非常に高感度であったため、Milli-Q 水でさらに希釈して使用しました。本分析では、基準内の精度で、すべての分析物を最小検量濃度で検出できました。SN 比が3を上回ったことから、検出限界は0.002 µg/L 未満であると判断しました。ERA から入手した調製済みの品質管理 (QC) サンプルは、プリカーサーイオン $m/z = 99$ 、101 とともにベンダーの許容限界である 8.88 µg/L から 12.3 µg/L で % RSD はそれぞれ 0.7 と 1.5 でした。以上のように、Dionex ICS-6000 HPIC システムとTSQ Fortis 質量分析計を組み合わせ、最適な性能のプラットフォームソリューションにより、水サンプル中の過塩素酸を優れた再現性で定量できました。

参考文献

1. Urbansky, E. T. Quantitation of Perchlorate Ion: Practices and Advances Applied to the Analysis of Common Matrices, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **2007**, 30(4), 32.

詳細はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/Fortis

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

実際の販売価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。

標準販売条件はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/jp-tc **IC248_A21020B**

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL: 0120-753-670 FAX: 0120-753-671

Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC