

飲料水に含まれる微量のハロ酢酸9種、臭素酸およびダラポンのタンデムIC-MS/MSによる高速測定

著者: Xin Zhang, Charanjit Saini, Chris Pohl, and Yan Liu Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, CA

キーワード: IC-MS/MS、HAA5、HAA9、消毒副生成物 (DBP)、EPA 557、Dionex IonPac AS31カラム、Dionex ICS-6000イオンクロマトグラフィーシステム、TSQ Fortis トリプル四重極質量分析計

目的

米国EPA Method 557に準拠した、Thermo Scientific™ Dionex™ IonPac™ AS31カラムを用いてThermo Scientific™ Dionex™ ICS-6000イオンクロマトグラフィーシステムとトリプル四重極質量分析計によるエレクトロスプレーイオン化法を用いて、飲料水中の低濃度のハロ酢酸、臭素酸およびダラポンを定量する。

はじめに

飲料水中の病原性微生物は塩素やクロラミンなどの一般的な水用消毒剤を用いて死滅させます。ハロ酢酸 (HAA) はこの消毒過程で生成される望ましくない消毒副生成物 (DBP) の一種です。主なHAAには、モノクロロ酢酸 (MCAA)、ジクロロ酢酸 (DCAA)、トリクロロ酢酸 (TCAA)、モノブromo酢酸 (MBAA)、ジブromo酢酸 (DBAA)、トリブromo酢酸 (TBAA)、ブromoクロロ酢酸 (BCAA)、ブromoジクロロ酢酸 (BDCAA)、およびクロロジブromo酢酸 (CDBAA) の9種があります。発がん性、変異原性、発毒性、生殖毒性、肝毒性の疑いがあることから¹⁻⁴、世界保健機関 (WHO) ⁵ は飲料水中のDBPに関するガイドラインを策定しました。米国では環境保護庁 (EPA) がSafe Drinking Water Act (SDWA: 安全飲料水法) の一部としてこれらのガイドラインを実施しています。



1998年に公示されたStage 1 Disinfectants and DBPs Rule (Stage 1 DBPR) (ステージ1: 消毒剤および消毒副生成物規則) は、初めて総トリハロメタンの (TTHM) の限度値を80 µg/L、HAA 5種 (HAA5: MCAA、DCAA、TCAA、MBAA、およびDBAA) の合計最大汚染レベルを60 µg/Lに決めました。また、最大汚染濃度目標 (MCLG) をジクロロ酢酸 (DCAA) はゼロ、トリクロロ酢酸 (TCAA) は30 µg/Lに設定しています。ステージ2 DBPRでは、TCAAのMCLGを20 µg/Lに引き下げ、MCAAは70 µg/Lに設定しました。⁶ これを受けて、水中のHAAの濃度、挙動、および分散を高速かつ正確に分析する手法の開発が進められました。オゾンは*Cryptosporidia*などの塩素耐性を持つ微生物の処理に効果があり、飲料水の消毒剤として非常に有用です。⁷ オゾンは寿命が短いことから水に味が付かず、残留性もないため、ボトル入り飲料水の一般的な消毒方法として使用されます。^{2,3} また、ろ過水濁度を抑えて、多くのハロゲン化消毒副生成物の生成を低減する効果があり、飲料

水の水質改善に役立ちます。そのため、塩素処理とオゾン処理を組み合わせた消毒プロセスを実施する水道事業者もいます。しかし、臭化物を含む飲料水をオゾン処理したときに消毒副生成物として発生する臭素酸は、低濃度でも人体に対する発がん性のおそれがあります。⁴ EPAと欧州委員会は、飲料水中の臭素酸の最大汚染濃度 (MCL) を10 µg/L (10 ppb) と規定しています。^{5,6} また、グラボンは果樹、豆、コーヒー、とうもろこし、綿花、エンドウなどさまざまな農作物の除草剤として使用されていますが、芝生、排水溝、鉄道線路など多くの非農業用途と工業用途でも使用されています。最大汚染濃度を大幅に上回るグラボンを含む水を長年飲用すると、腎臓に軽微な変化が起きる可能性があります。EPAは、グラボンの最大汚染濃度を0.2 mg/L (200 ppb) に規定しています。

HAAの測定にはイオンクロマトグラフィー (IC) が用いられています。EPA Method 557では、飲料水サンプル中のHAA、臭素酸、およびグラボンを直接測定する手法としてIC-ESI-MS/MSを用いています。規制対象のすべてのHAAを濃縮および誘導体化することなく57分間で分離、分析します。⁸ 2017年にEPAの承認を受けたThermo Fisher Method 557.1 は、HAAの測定に二次元イオンクロマトグラフィーを使用しています。⁹

本アプリケーションノートでは、新しいイオン交換カラム (Thermo Scientific Dionex IonPac AS31) を用いた飲料水中の低濃度のHAA 9種、臭素酸、およびグラボンのIC-MS/MS分析について報告します。新しいIC-MS/MS法は、水サンプル中のすべての分析物を35分で測定することが可能です。Thermo Scientific Dionex IonPac AS24カラムを用いた本来のEPA Method 557と比較して分析時間が39%短縮されます。HAA、臭素酸、およびグラボンを直接検出することから、EPA Method 552.3に規定されるサンプルの酸性化、抽出、および誘導体化などの煩雑な前処理が不要になります。また、干渉イオンを分離して廃液に分岐することでメソッドの堅牢性を確保し、機器のダウンタイムが削減されます。標準溶液 (超純水)、ラボラトリー合成サンプルマトリックス (LSSM)、および都市飲料水において優れた精度と正確度が得られます。さらに、EPA Method 557ガイドラインに従ったメソッドのフルバリデーションとして、HAA 9種、臭素酸およびグラボンの検量線、最低濃度最小報告レベル (LCMRL)、メソッド検出限界 (DL) の評価について説明します。

実験

機器および消耗品

- Thermo Scientific™ Dionex™ ICS-6000HPICシステム：
 - DP (分析用デュアルアナリティカルポンプ、P/N 22181-60008)
 - EG (溶離液ジェネレーター、P/N 22181-60020)
 - AS-APオートサンプラー、サンプルシリンジ付き、250 µL (P/N 074306)
 - Low Temperature DC (検出器およびマイクロボアカラムコンパートメント、P/N 22181-60059)
- Thermo Scientific™ Dionex™ 6ポート高圧バルブ (P/N 22153-60014)
- Thermo Scientific™ TSQ Fortis™ トリプル四重極質量分析計
- Thermo Scientific™ Dionex™ AXP補助ポンプ (P/N 063973)
- Thermo Scientific™ Dionex™ EGC 500 KOH溶離液ジェネレーターカートリッジ (P/N 075778)
- Thermo Scientific™ Dionex™ CR-ATC 600連続再生陰イオントラップカラム (P/N 088662)
- Thermo Scientific™ Dionex™ ADRS 600電解再生サプレッサー、2 mm (P/N 088667)
- Thermo Scientific™ Dionex™ IonPac™ AS31分析カラム (2×250 mm、P/N 303147)
- Thermo Scientific™ Dionex™ IonPac™ AG31ガードカラム (2×50 mm、P/N 303148)
- Thermo Scientific™ Dionex™ AS-APオートサンプラーバイアル、10 mL (P/N 074228)
- Fisherbrand™ 細口フィールドサンプルボトル、高密度ポリエチレン製 (HDPE)、125 mL、250 mL、1,000 mL、標準物質保存用 (Fisher Scientific、P/N 02-895A、02-895B、02-895D)

試薬および標準物質

- 塩化ナトリウム (結晶/ACSグレード) Fisher Chemical (Fisher Scientific P/N S271-500)
- 硝酸ナトリウム (結晶/ACSグレード) Fisher Chemical (Fisher Scientific P/N S343-500)
- 無水硫酸ナトリウム (粒状/ACSグレード) Fisher Chemical (Fisher Scientific P/N S421-500)
- 無水重炭酸ナトリウム (粉末/ACSグレード) Fisher Chemical (Fisher Scientific P/N S233-500)
- 塩化アンモニウム (結晶/ACSグレード) Fisher Chemical (Fisher Scientific P/N A661-500)
- Thermo Scientific™ Dionex™ ハロ酢酸内標準液、monochloroacetic acid-2-¹³C、dichloroacetic acid-2-¹³C、trichloroacetic acid-2-¹³C、monobromoacetic acid-1-¹³C、MTBE溶液にて各1,000 mg/L、(P/N 069406、069407、069408、069409)
- メタノール、Optima™ LC/MSグレード、Fisher Chemical (Fisher Scientific A456-1)
- アセトニトリル、Optima™ LC/MSグレード、Fisher Chemical (Fisher Scientific A955-1)
- イソプロパノール、Optima™ LC/MSグレード、Fisher Chemical (Fisher Scientific A461-1)
- ハロ酢酸混合標準液、HAA 9種 (MCAA、DCAA、TCAA、MBAA、DBAA、TBAA、BCAA、BDCAA、CDBAA)、MTBE (methyl-tert-butyl-ether) 溶液にて各1,000 µg/mL、Restekより購入 (Bellefonte, PA)
- グラボンおよび臭素酸、Ultra Scientificより購入、メタノール溶液 (Ultra Scientific製) にて各1,000 µg/mL

IC-MS/MSシステム分析条件

パラメーター	
イオンクロマトグラフィー	
ICシステム	Dionex ICS-6000HPICシステム
MS検出器	TSQ Fortistトリプル四重極質量分析計
カラム	Dionex IonPac AG31ガードカラム、2×50 mm Dionex IonPac AS31分析カラム、2×250 mm
溶離液ソース	Dionex EGC 500 KOH溶離液ジェネレーターカートリッジ、Dionex CR-ATC 600連続再生陰イオントラップカラム
溶離液	KOH、17~85 mMグラジエント溶出：KOH濃度を最初の7分間は17 mMに保持し、その後11分間で85 mMまで直線的に増加させて、さらに17分間85 mMで保持した。
流量	デュアルポンプの両ポンプで0.3 mL/min
注入量	100 µL
温度	15°C (カラムコンパートメント)、20°C (検出器コンパートメント) 10°C (サンプラーコンパートメント)
検出	サプレッサー式電気伝導度検出、Dionex ADRS 600 電解再生サプレッサー (2 mm)
バックグラウンド電気伝導度	<0.5 µS
ランタイム	36分
イソプロピルアルコール流量	0.10 mL/min
質量分析検出器	
イオン化インターフェース	エレクトロスプレーイオン化 (ESI)、ネガティブモード
分岐バルブ切り替え時間	溶離液を廃液ラインへ、0~5分、8.5~11.1分、15.6~21.7分
ガス制御	シースガス圧：50 arbitrary (Arb) units 補助ガス圧：10 Arb
スイープガス圧	3 Arb
ソース電圧	-3,200 V
ベーパーライザー温度	275°C
イオントランスファーチューブ温度	225°C
FWHM	Q1=0.7、Q3=0.7
CIDガス	2.0 mTorr

装置

今回使用したシステムの概要を図1に示します。Dionex ICS-6000HPICシステムは、2つのアナリティカルポンプ (DP)、溶離液ジェネレーター (EG)、オートサンプラー、Low temperature DC、マイクロボアカラムコンパートメント、サプレッサー、および電気伝導度検出器 (CD) で構成されます。ICシステムに超純水を送液すると、EGが自動で水酸化物溶離液を生成します。溶離液は破壊検出器である質量分析計に供給されるため、溶離液をサプレッサー、EG、およびCR-ATCの再生に使用することはできません。したがって、サプレッサーおよびCR-ATCの再生のために第2超純水リザーバーが必要です (第2アナリティカルポンプより供給、図1の5)。CDおよび質量分析計の間にある6ポート切り替えバルブが、電気伝導度を低減した溶離液を質量分析計、または廃液に流します (図1の7)。Thermo Scientific™ Dionex™ ADRS 600電解再生サプレッサーは溶離液 (KOH) を水に、溶出した陰イオン成分に対応する酸に変換して、両方の検出器における感度と選択性を向上させます。ただし、HAA、臭素酸、およびガラポンは不揮発性化合物であることに注意しなければなりません。電気伝導

度を低減した溶離液中のサンプルは、ごく薄いHAA水溶液です。脱溶媒と分析物のイオン化を促すために、質量分析計の前にT字配管を設けてインプロピルアルコール (図1の8) を100 $\mu\text{L}/\text{min}$ で添加します。

切替バルブは位置A (MSへ)、または位置B (MSではなく廃液へ) に設定可能です。位置Aのとき、電気伝導度検出器からの溶離液は、ポート2 → 3 → 1 → 6を順に経由して質量分析計に流入します。同時に、第2ポンプから供給される超純水は、ポート5および4を経由してサプレッサーとCR-ATCに流入します。位置Bのとき、溶離液は、ポート2 → 1 → 3 → 4を順に経由してサプレッサーに流入し、サプレッサーとCR-ATCの再生に使用されます (質量分析計に流入しないことから「廃液」と呼びます)。第2超純水の流路を質量分析計に切り替えてイオン化源の過熱を防止します。サンプル中のマトリックスとなる無機イオンを廃液側に流路を切り替えることで、質量分析計におけるシグナルサプレッションの防止と、イオン化源の汚染の低減および堅牢性の維持が可能になります。本メソッドでは、分析開始から5分まで、8.5分から11.1分まで、15.6分から21.7分までは溶離液を廃液側に流します。

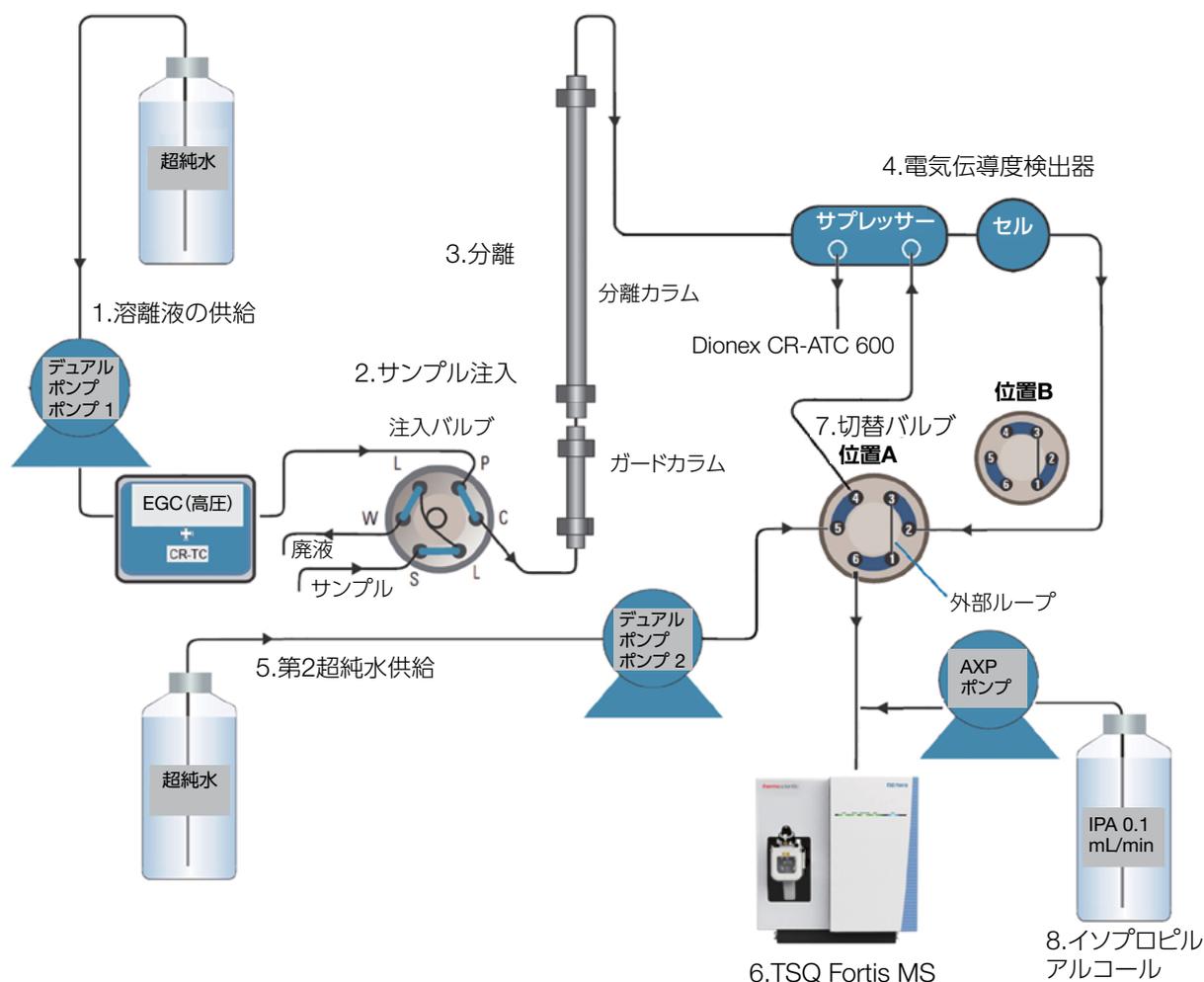


図1. IC-MS/MSシステムの概略図

今回の分析では、検出器としてTSQ Fortisトリプル四重極質量分析計を、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法を用いてネガティブモードで使用しました。データ取得は選択反応モニタリング(SRM) モードで実施し、Q1およびQ3の分解能をFWHM = 0.7に設定しました。最適なプリカーサーイオンおよびプロダクトイオンを測定し、分析物ごとにコリジョンエネルギー、チューブレンズ、ソースフラグメンテーションを最適化するためにシリンジポンプでサンプルを直接注入することでメソッドを最適化しました (表1)。

標準溶液、試薬、およびストック溶液

使用する水

純水とは、測定可能な量の分析対象物を含まない水、または分析対象物の最小報告レベル (MRL) の3分の1を超える濃度の干渉化合物を含まない水のことで、本メソッドを確実に実行するためには、水の純度が非常に重要です。そのため、Millipore超純水装置 (モデル番号 Milli-Q® Gradient A10または同等品、Millipore Corp, Billerica, MA,) で都市飲料水をさらに浄化して使用しました。本アプリケーションノートでは、このような水を超純水と呼びます。

ストック溶液および検量線標準原液

メタノールまたはMTBEと混合した標準溶液 (HAA 9種、臭素酸、およびガラボン、各1,000 µg/mL) を試薬メーカーから購入しました。

ストック溶液、分析対象物濃度1 µg/mL: 100 mLメスフラスコにそれぞれの標準溶液 (1,000 µg/mL) 100 µLを加えて、超純水で定容します。

検量線標準原液、分析対象物濃度40 µg/L: 100 mLメスフラスコにストック溶液4.0 mLを加えて、100 mg/Lの塩化アンモニウム溶液で定容します。

標準溶液および使用溶液はすべて4°Cで保管します。

内標準用標準溶液 (IS PDS) (1.0 µg/mL)

IS PDS、1.0 µg/mL: 100 mLメスフラスコにそれぞれの内標準溶液 (1,000 µg/mL) 100 µLを加えて、超純水で定容します。

検量線標準溶液

100 mg/Lの塩化アンモニウム溶液で検量線標準原液を希釈して、0.05 µg/Lから20 µg/Lの濃度でHAA 9種、臭素酸、およびガラボンを含む検量線作成用の標準溶液を調製しました (表2)。検量線標準溶液の保存期間は1カ月です。

表1. HAA、臭素酸およびガラボン測定のための最適なMSおよびSRM条件

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)
MCAA	92.9	35.1	9.7	79	14.6
MCAA_IS	93.9	35.1	9.1	82	13.1
DCAA	126.9	83.0	8.5	86	24.5
臭素酸	126.9	110.9	21.7	85	24.5
DCAA_IS	128.0	83.9	8.4	84	13.1
MBAA	136.9	78.9	8.7	86	9.8
MBAA_IS	137.9	78.9	9.4	84	14.7
ガラボン	140.9	96.9	7.7	84	13
TCAA_IS	161.9	117.9	5.3	78	18
BDCAA	162.8	80.9	8.6	79	22.9
TCAA	162.8	118.9	5.3	79	22.9
BCAA	172.8	128.9	9.6	89	22.8
CDBAA	206.8	78.9	15.6	91	22.9
DBAA	216.8	172.8	10.1	87	14.7
TBAA	250.7	78.9	19.4	87	26.1

表2. 検量線標準溶液の調製

調製濃度 (µg/L)	検量線標準原液 (mL)	検量線標準原液濃度 (µg/L)	100 mg/L NH ₄ Cl (mL)	最終液量 (mL)	1 µg/mL IS PDS (mL)
20	20	40	20	40	0.16
10	10	40	30	40	0.16
5	5	40	35	40	0.16
2	2	40	38	40	0.16
1	1	40	39	40	0.16
0.5	0.5	40	39.5	40	0.16
0.25	0.25	40	39.8	40	0.16
0.1	0.1	40	39.9	40	0.16
0.05	0.05	40	39.95	40	0.16

ラボラトリー合成サンプルマトリックス (LSSM)

塩化アンモニウム50 mg (防腐剤)、硝酸ナトリウム13.7 mg、重炭酸ナトリウム103 mg、塩化ナトリウム206 mg、硫酸ナトリウム185 mgを500 mLの超純水に溶解させてLSSMを調製しました。(ナトリウム塩ではなく) 陰イオンの質量にもとづいて、硝酸 (20 mg/L)、重炭酸 (150 mg/L)、塩化物 (250 mg/L)、硫酸 (250 mg/L) の濃度を決定しました。LSSMの推奨保存期間は1年です。

サンプルの採取、保存、および保管

サンプルの取り扱い

水サンプルを採取する際は、防腐剤として結晶または粒状の塩化アンモニウムを濃度100 mg/Lになるようにサンプルに加えます。たとえば、サンプル250 mLを採取する場合は、25 mgの塩化アンモニウムが必要です。IC-MS/MS分析ではさらなるサンプルの前処理は行いませんでした。サンプルは冷却して搬送し、採取後48時間は10°Cを超えないようにしてください。ラボラトリーでの受入時に、サンプル温度が10°C以下であることを確認してください。ラボラトリーでは6°C以下で保存し、分析に使用するまで光から保護してください。サンプルを凍結させないでください。

最低濃度最小報告レベル (LCMRL) およびメソッド検出限界 (MDL)

11の分析対象物 (HAA 9種、臭素酸、ガラボン) を含む標準溶液を100 mg/Lの塩化アンモニウム溶液中で4 µg/LのISSと混合して、0.05 µg/L、0.1 µg/L、0.25 µg/L、0.375 µg/L、0.5 µg/L、0.75 µg/L、1.0 µg/L、1.25 µg/L、1.5 µg/L、1.75 µg/L、2.00 µg/Lに調製しました。

定量解析

地下水、都市飲料水、およびボトル入り飲料水サンプルに含まれるHAA 9種、臭素酸およびガラボンの定性と定量をMS/MS分析により行いました。各サンプルを3回ずつ分析しました (n = 3)。

ラボラトリーブランクにより分析物の汚染を評価したところ、すべての分析物濃度はMRLの3分の1でした。超純水、LSSM、および飲料水サンプルに標準溶液をスパイク添加して、各HAAについて2種類の濃度で7回繰り返し回収試験を実施しました。本メソッドの手順にはサンプル抽出が含まれないことから、イオンサプレッションまたはエンハンスメントがあれば回収データに反映されます。

データの分析には、Thermo Scientific™ Chromeleon™ クロマトグラフィーデータシステム (CDS) ソフトウェア Version 7.2.9およびThermo Scientific™ FreeStyle™ 1.5を使用しました。

結果と考察

クロマトグラフィーの最適化

Dionex IonPac AS31カラムを用いて、最適なクロマトグラフィー条件下で、塩化物イオン、硫酸イオン、炭酸イオン、硝酸イオンなどの一般的な干渉陰イオンに対して十分な感度および分離能でHAA 9種、臭素酸、およびガラボンを35分間で検出しました。Dionex IonPac AS31カラムは画期的な固定相により、サンプル中のHAA、臭素酸およびガラボンのより高速な分析を実現しながら、大量ループ注入により分析物の感度を最大限に高めます。図2に示すように、同等の分離能を持つDionex IonPac AS24 カラム (EPA Method 557に規定される分析法で使用) と比較して、Dionex IonPac AS31は分析時間が39%短縮されました。

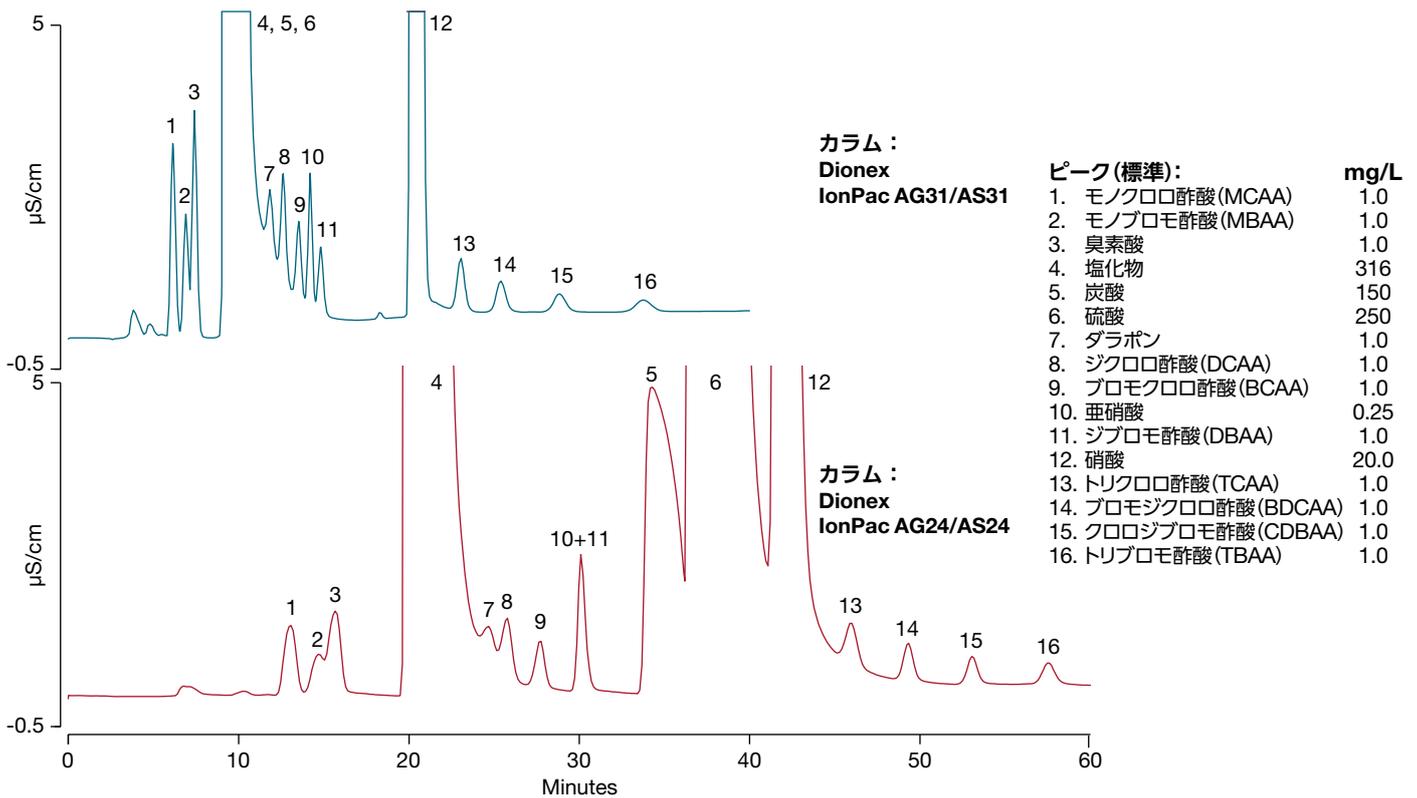


図2. U.S. EPA Method 557ラボラトリー合成サンプルマトリックス (LSSM) 中のハロ酢酸、グラボンおよび臭素酸の分離、Dionex IonPac AS31カラムおよびDionex IonPac AS24カラム (U.S. EPA 557指定品) の比較、電気伝導度検出器を使用

通常、サンプルマトリックスの陰イオンはシグナルサプレッションの原因となります。流路の質量分析計よりも手前に切替バルブを設けてサンプルマトリックスを分岐させることで、メソッドの堅牢性を向上させました (図1)。分岐あり (選択時間にわたり廃液側へ分岐、位置B)、および分岐なし (溶離液は常にMS検出器へ流入、位置A) の条件下でシグナル強度を評価する分析を計画、実施しました。

図3Aは、この2つの条件下で超純水から検出されたHAA 5 μg/Lのピーク面積です。超純水はマトリックスイオンをほとんど含まないことから、予想どおり両条件下で類似したピーク面積が確認されました。

一方、LSSMマトリックス (図3B) では、一般的な干渉イオンを分岐したことで、分析物のシグナル強度が向上しました。特にグラブンは、大量の塩化物イオン、炭酸イオン、および硫酸イオンを分岐した直後に溶出し、シグナル強度は120%も増加しました。また、DCAA、BCAA、およびDBAAは、マトリックスの分岐によりシグナル強度がそれぞれ58%、63%、87%向上しました。

図4に、LSSM中のHAA 9種、臭素酸およびグラブンを各5 μg/Lのクロマトグラムを示します。CDBAAチャンネルのピーク1とBDCAAは保持時間が同じですが、これはBDCAAがプリカーサーイオン[BDCAA-H]⁻とプロダクトイオン[Br]⁻を持つためです。このように、ピーク1の強度がBDCAAよりも低くなるのは、選択反応モニタリング (SRM) で一般的に見られるトランジションではありません。ピーク2についても同様の説明が当てはまります (CDBAAの一般的なSRMトランジションではありません)

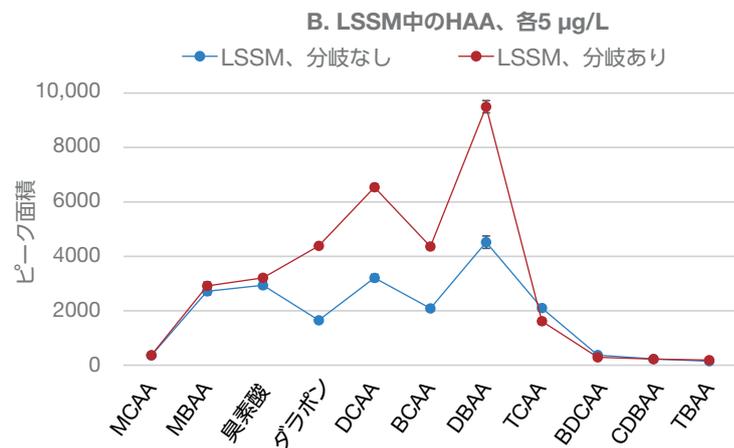
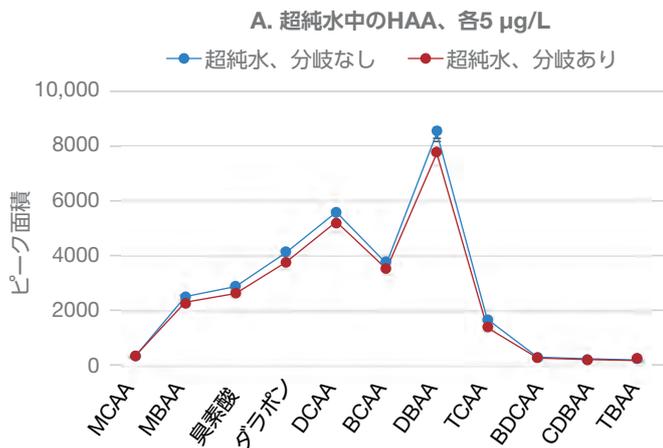


図3. MSシグナル強度、分岐あり、および分岐なしの比較。(A: 超純水中のHAA、臭素酸およびグラボン各5 µg/L; B: LSSM中のHAA、臭素酸、およびグラボン各5 µg/L)

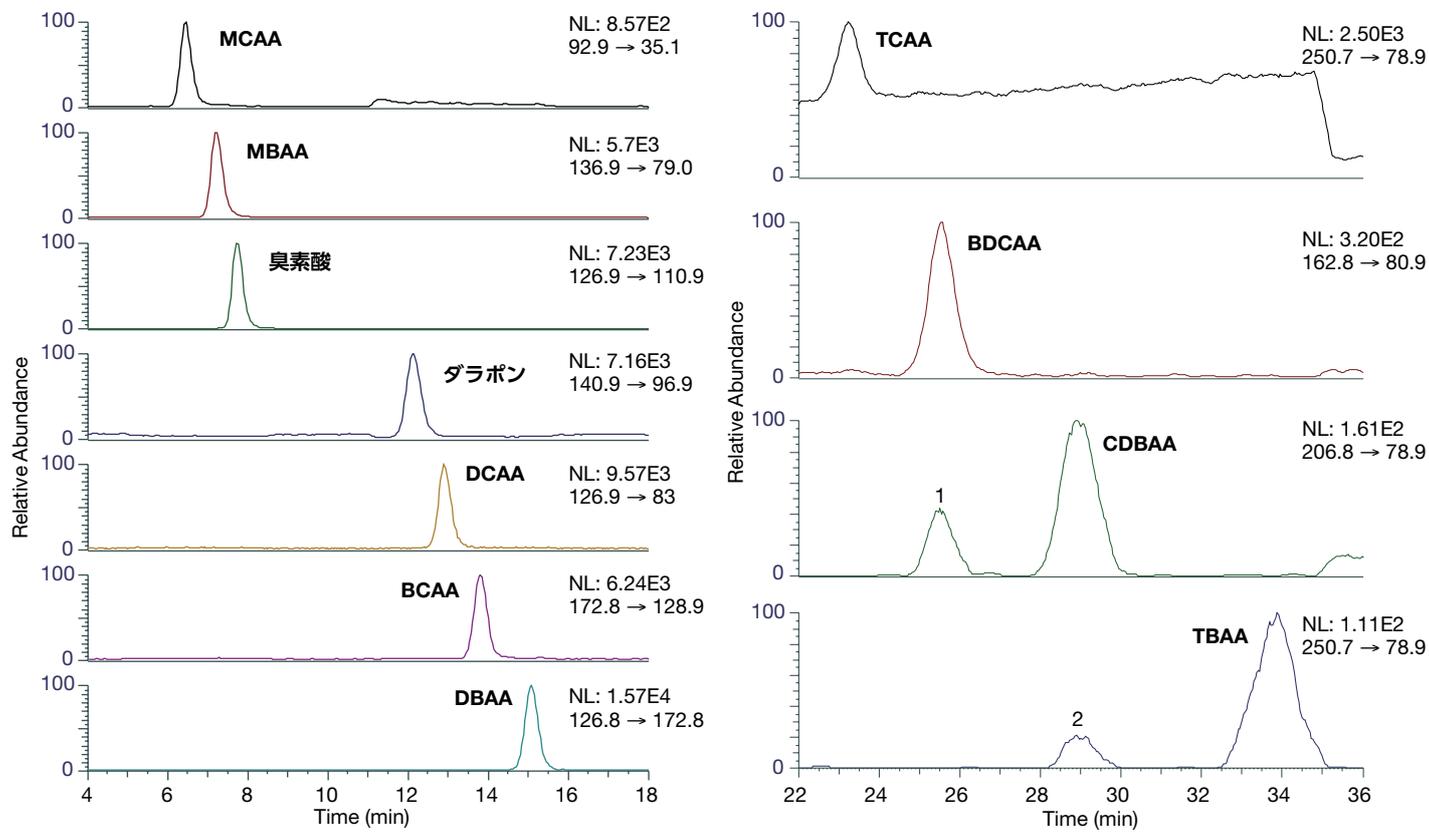


図4. LSSM中のHAA 9種、臭素酸、およびグラボン各5 µg/LのIC-MS/MS SRMクロマトグラム

定量分析およびメソッドのバリデーション

検量線

表3に、分析対象物とそれぞれの内標準、検量線範囲、および決定係数 (r^2) を示します。サンプル注入量は100 μL で、メイクアップ溶媒としてイソプロピルアルコールを0.1 mL/minで添加しました。すべての分析対象物において、記載の検量線範囲で $r^2 \geq 0.99$ の直線性が確認されました。すべての検量線範囲は、EPA Method 557の要求事項を満たすか、それを上回っています。

表3. HAA 9種、臭素酸、およびガラボンの測定で得られた検量線データ相対内標準 (IS)、検量線範囲、および決定係数 (r^2)

分析物	内標準	検量線範囲 ($\mu\text{g/L}$)	r^2
MCAA	MCAA[2- ^{13}C]	0.1~20	1.000
MBAA	MBAA[1- ^{13}C]	0.1~20	0.999
臭素酸	MBAA[1- ^{13}C]	0.1~20	1.000
ガラボン	DCAA[2- ^{13}C]	0.1~20	1.000
DCAA	DCAA[2- ^{13}C]	0.1~20	1.000
BCAA	DCAA[2- ^{13}C]	0.1~20	1.000
DBAA	DCAA[2- ^{13}C]	0.1~20	1.000
TCAA	TCAA[2- ^{13}C]	0.25~20	1.000
BDCAA	TCAA[2- ^{13}C]	0.25~20	1.000
CDBAA	TCAA[2- ^{13}C]	0.1~20	1.000
TBAA	TCAA[2- ^{13}C]	0.1~20	1.000

メソッド検出限界およびLCMRLの決定

検出限界 (DL) とは、信頼度99%で測定可能な最低濃度の統計的計算値で、ゼロよりも大きな値を報告します。最低濃度最小報告レベル (LCMRL) とは、添加回収率が50%から150%に収まる確率が99%以上となる最低スパイク濃度を指します。DLおよびLCMRLを用いて、検出限界および定量限界を評価しました。DLおよびLCMRLは、HAA標準物質を7回繰り返し注入して得られたHAA濃度 (0.05 $\mu\text{g/L}$ ~2 $\mu\text{g/L}$) を米国EPAのLCMRL 計算機¹⁰に入力して求めました。計算の結果、LCMRLは0.035 $\mu\text{g/L}$ から0.25 $\mu\text{g/L}$ 、DLは0.009 $\mu\text{g/L}$ から0.099 $\mu\text{g/L}$ となり、いずれもEPA Method 557が規定する値と同等、またはそれを上回りました (表4)。

表4. IC-MS/MS法によるHAA、臭素酸、およびガラボンのメソッド検出限界 (MDL) および最低濃度最小報告レベル (LCMRL)

分析物 ($\mu\text{g/L}$ 、 $n = 7$)	EPA報告 DL	DL計算値	EPA報告 LCMRL	LCMRL 計算値
MCAA	0.20	0.099	0.58	0.15
MBAA	0.064	0.028	0.19	0.035
臭素酸	0.02	0.012	0.042	0.039
ガラボン	0.038	0.031	0.41	0.20
DCAA	0.055	0.036	0.13	0.096
BCAA	0.11	0.087	0.16	0.15
DBAA	0.015	0.009	0.062	0.058
TCAA	0.09	0.061	0.25	0.14
BDCAA	0.05	0.027	0.19	0.055
CDBAA	0.041	0.042	0.080	0.10
TBAA	0.067	0.067	0.27	0.25

メソッドの精度および正確度

LSSMは、通常の飲料水に含まれるよりも高濃度の一般的な陰イオンを添加して調製した溶液です。EPA Method 557では、飲料水サンプルを分析する前に正確度および精度を確認することが要求されています。超純水、LSSM、および都市飲料水 (DW) にHAA、臭素酸およびガラボンを各2 $\mu\text{g/L}$ および10 $\mu\text{g/L}$ スパイク添加して7回繰り返し測定することにより、メソッドの精度を評価しました。相対標準偏差 (RSD) は、HAAスパイク2 $\mu\text{g/L}$ では0.6%から8%、HAAスパイク10 $\mu\text{g/L}$ でも0.7% から6.4%と同等の結果が確認され (表5)、非常に高い精度を示しました。また、各種水サンプルにHAAをスパイク添加して回収率を測定することで、メソッドの正確度を評価しました。回収率は、HAA 2 $\mu\text{g/L}$ 添加の場合は92%から110%、10 $\mu\text{g/L}$ 添加の場合は87%から106%と、EPA Method 557で一般に認められる $\pm 30\%$ の範囲内に十分に収まりました。

飲料水サンプルの分析

本メソッドを用いて、各種飲料水サンプルに含まれるHAA 9種、臭素酸、およびガラボンを測定しました。サンプルは、井戸水 (地下水)、都市飲料水 (カリフォルニア州内の3都市から採取)、および複数のベンダーが提供するボトル入り飲料水から採取しました。表6に、それぞれの平均濃度 ($n = 3$) および標準偏差を示します。井戸水は地下水であり、塩素消毒を行わない

ことから、予想どおり消毒副生成物はまったく検出されませんでした。両方のボトル入り飲料水 (BW) サンプルからは微量の臭素酸が検出されました。これは、製造過程でのオゾン殺菌によるものと考えられます。3つの都市飲料水サンプルのうち、都市2はDBPの検出量が著しく少ない結果となりました。都市3は、9種類のHAAのうち、MCAA、DCAA、TCAA、およびBCAAがもっとも多く検出され、合計でサンプル中の全HAA

濃度の90%を超える結果となりました。DCAAおよびTCAAの最大濃度はそれぞれ12.4 µg/L、4.48 µg/Lですが、WHOが提唱する50 µg/Lおよび100 µg/LのMCL¹¹を大きく下回ります。HAA 5種およびHAA 9種の合計濃度は1.19 µg/Lから23.5 µg/Lで、米国EPAが定めるStage 1およびStage 2 DBPRの要求事項を満たしています。臭素酸およびガラポン濃度は、すべてのサンプルでEPAの要求事項を満たしています。

表5. HAA 2 µg/Lおよび10 µg/Lを添加したときの回収率と相対標準偏差、3種類のマトリックスを使用：超純水、LSSM、および都市飲料水 (DW) (n = 7)

分析物 n=7	2 µg/Lスパイク						10 µg/Lスパイク					
	超純水		LSSM		都市飲料水		超純水		LSSM		都市飲料水	
	REC (%)	RSD	REC (%)	RSD	REC (%)	RSD	REC (%)	RSD	REC (%)	RSD	REC (%)	RSD
MCAA	99.6	3.4	105	5.1	108	5.1	102	3.0	99.6	2.8	103	6.0
MBAA	101	3.8	105	4.2	104	4.0	101	0.7	97.0	3.2	99.2	3.7
臭素酸	104	2.8	101	5.3	99.0	4.5	102	2.5	98.8	4.0	101	5.0
ガラポン	104	1.8	99.2	3.2	103	4.0	102	1.3	91.6	3.1	98.2	3.1
DCAA	110	1.8	110	2.0	107	2.0	101	2.0	100	2.7	90.7	3.3
BCAA	104	2.4	107	4.1	93.6	3.2	104	2.0	97.6	4.0	89.3	3.2
DBAA	102	0.6	101	2.8	94.8	2.2	101	1.4	90.1	3.0	91.4	4.2
TCAA	102	6.7	106	8.6	98.1	5.4	95	3.0	93.5	4.8	99.2	3.3
BDCAA	98.2	3.1	97.0	4.4	104	7.0	99.0	4.7	88.7	5.0	97.2	3.3
CDBAA	92.0	6.7	93.3	7.3	108	5.7	98.1	4.2	90.9	3.3	106	3.0
TBAA	92.0	3.7	98.4	7.4	103	5.7	104	5.7	86.7	4.4	100	6.4

表6. 複数の飲料水 (DW) サンプル中のHAA、臭素酸、およびガラポンの測定結果

分析物	濃度 (µg/L) [平均値 ± 標準偏差、n = 3]					
	井戸水	ボトル入り飲料水 ベンダー1	ボトル入り飲料水 ベンダー2	都市飲料水1	都市飲料水2	都市飲料水3
MCAA	ND	ND	ND	0.75 ± 0.06	ND	2.7 ± 0.1
MBAA	ND	ND	ND	0.21 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.08 ± 0.004
臭素酸	ND	0.18 ± 0.06	0.52 ± 0.01	0.61 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.08 ± 0.005
ガラポン	ND	ND	ND	ND	ND	0.29 ± 0.01
DCAA	ND	ND	ND	3.7 ± 0.1	0.31 ± 0.04	12 ± 0.1
BCAA	ND	ND	ND	2.8 ± 0.1	ND	2.4 ± 0.1
DBAA	ND	ND	ND	1.2 ± 0.04	0.75 ± 0.04	0.34 ± 0.001
TCAA	ND	ND	ND	0.45 ± 0.01	ND	4.5 ± 0.02
BDCAA	ND	ND	ND	0.72 ± 0.01	ND	1.1 ± 0.1
CDBAA	ND	ND	ND	0.48 ± 0.06	ND	ND
TBAA	ND	ND	ND	ND	ND	ND
HAA5	ND	ND	ND	6.4	1.2	20
HAA9	ND	ND	ND	10.3	1.2	24

ND: 不検出

HAA5: 規制対象HAA 5種の合計: MCAA、DCAA、TCAA、MBAA、DBAA

HAA9: HAA 9種の合計

結論

飲料水サンプル中のHAA 9種、臭素酸、およびダラポンをサンプルの前処理を行わずにIC-MS/MSを用いて直接分析するための高速かつ高感度でシンプルな手法が開発されました。Dionex IonPac AS31カラムの独自の選択性により、35分間で塩化物イオン、硫酸イオン、炭酸イオンなどの一般的な干渉陰イオンからHAA 9種、臭素酸、およびダラポンを良好に分離することができました。また、高感度のMS検出器は飲料水サンプルの直接注入が可能で、煩雑ではらつきの要因となるサンプル調製が不要になりました。水酸化物溶離液ジェネレーターおよびRFIC (Reagent-Free) のICシステムを使用することで、HAA、臭素酸、およびダラポンの分離と検出が可能な、信頼性と費用対効果に優れ、環境配慮型のプラットフォームを実現することができます。

参考文献

1. Linder, R.E.; Klinefelter, G.R.; Strader, L.F.; Suarez, J.D.; Roberts, N.L. *Reprod. Toxicol.* **1997**, *11*, 681.
2. Melnick, R.L.; Nyska, A.; Foster, P.M.; Roycroft, J.H.; Kissling, G.E. *Toxicology* **2007**, *230*, 126.
3. Hunter III, E.S.; Rogers, E.; Blanton, M.; Richard, A.; Chernoff, N. *Reprod. Toxicol.* **2006**, *21*, 260.
4. Itoh, S.; Murakami, H.; Fukuhara, M.; Nakano, A. *J. Water Supply Res. Technol.-Aqua.* **2007**, *56*, 95.
5. World Health Organization, Guidelines for drinking-water quality - Volume 1: Recommendations, 3rd ed., Vol. 1, 2008.
6. U.S. Environmental Protection Agency, Stage 1 and Stage 2 Disinfectants and Disinfection Byproducts Rules Website, <https://www.epa.gov/dwreginfo/stage-1-and-stage-2-disinfectants-and-disinfection-byproducts-rules>
7. Bonacquisti, T.A. Drinking Water Utility's Perspective on Bromide, Bromate and Ozonation, *Toxicology*, **2006**, *221*, 145-148.
8. U.S. EPA Method 557: Determination of Haloacetic Acids Bromate and Dalapon in Drinking Water by Ion Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (IC-ESI-MS/MS), 2009. www.epa.gov/safewater
9. Thermo Fisher Method 557.1—Determination of Haloacetic Acids in Drinking Water using Two-Dimensional Ion Chromatography with Suppressed Conductivity Detection (Thermo Fisher 2017a). <https://www.federalregister.gov/documents/2017/07/27/2017-15380/expedited-approval-of-alternative-test-procedures-for-the-analysis-of-contaminants-under-the-safe#p-50>
10. U.S. Environmental Protection Agency, Technical Basis for the Lowest Concentration Minimum Reporting Level (LCMRL) Calculator, 2010.
11. WHO, Revision of the WHO Guidelines for Drinking Water Quality, WHO, Geneva, 1991.

詳細はこちらをご覧ください。

thermofisher.com/IC-MS

© 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 **IC249_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