

UPLC/MS/MSを用いたハロ酢酸分析法開発

○佐藤信武, 津田葉子, 小西泰二, 江崎達哉 (日本ウォーターズ株式会社)

Development of determination of Haloacetic acids by UPLC/MS/MS

○Nobutake Sato, Yoko Tsuda, Taiji Konishi and Tatsuya Ezaki (Nihon Waters K.K.)

【はじめに】

ハロ酢酸類は水道水の塩素処理により生成する消毒副生成物であり、水道水質基準でも3種のハロ酢酸類(モノクロ酢酸、ジクロ酢酸、トリクロ酢酸)について基準値が設定されている。その分析には水中のハロ酢酸類を溶媒抽出後、ジアゾメタン法で誘導体化し、ガスクロマトグラフィー質量分析法にて定量する方法が採用されている。しかしながら、誘導体化は煩雑な操作であり、さらに、発がん性を有するジアゾメタンを用いるため、より簡易で安全な分析法の開発が望まれている。

農業や医薬品など多くの水中成分の分析系で用いられる逆相クロマトグラフィー質量分析法(LC/MS)ではハロ酢酸類を誘導体化せずに分析できるため、簡便、安全であるだけでなく誘導体化処理に伴う変動も少なく、より精度の高い分析が可能となる。ハロ酢酸類は強酸性の水溶性化合物であるため移動相のpHを下げてイオン解離を防ぐことで保持は強まるが、イオン性を抑制するため感度は低下する。水質基準値を十分満たす感度、かつ、試料中の無機イオンの影響を回避できる保持を確保するためには、最適なカラムケミストリーを選択しなければならない。本発表では逆相LC/MSでハロ酢酸類を分析するための対策や最適なカラムケミストリーの原理に関して報告する。

【実験と結果】

分析装置は汎用のLC/MS/MSよりも迅速・高感度なUltraPerformance LC/MS/MSシステムを用い、カラムはACQUITY UPLC用カラムで高極性化合物の分析に適したHSS T3カラムを用いた。3種類のハロ酢酸標準品(MCAA、DCAA、TCAA)を用いて、ハロ酢酸標準溶液(10 μ g/L)と硝酸性窒素含有試料(ハロ酢酸10 μ g/L+窒素8mg/L)を調製した。硝酸性窒素含有によるイオンサプレッションの確認のため、硝酸性窒素の濃度は原水に含まれる最も高い濃度よりも高い値とした。

ハロ酢酸標準溶液、硝酸性窒素含有試料ともに2種類の方法(①試料溶液を注入回数分のバイアルに小分けして各バイアル各1回注入/②試料溶液を1個のバイアルに入れて繰り返し注入)で再現性の検証も実施した。

UPLC Condition

Flow rate: 0.50mL/min

Solvent A: 0.2% Formic acid in Water

Solvent B: ACN

Gradient Profile

Time (min)	A(%)	B(%)	Curve
1. Initial	99.0	1.0	
2. 1.50	80.0	20.0	6
3. 3.00	10.0	90.0	6
4. 4.50	10.0	90.0	6
5. 4.60	99.0	10.0	6

Column: UPLC HSS T3 2.1mmID x 100mm 1.8 μ m

Column Temp.: 30 $^{\circ}$ C

Sample Temp.: 10 $^{\circ}$ C

MRM Condition

Function 1

Retention window (mins): 0.000 to 1.600

Ionization mode: ES-

Data type: SIR or MRM data

Function type: MRM of 2 channels

Chan Reaction Dwell(secs) Cone Volt. Col.Energy Delay(secs) Compound

1 : 92.90 > 35.00 0.100 13.0 7.0 Auto MCAA01

2 : 126.90 > 82.90 0.100 17.0 9.0 Auto DCAA01

Function 2

Retention window (mins): 1.300 to 5.000

Ionization mode: ES-

Data type: SIR or MRM data

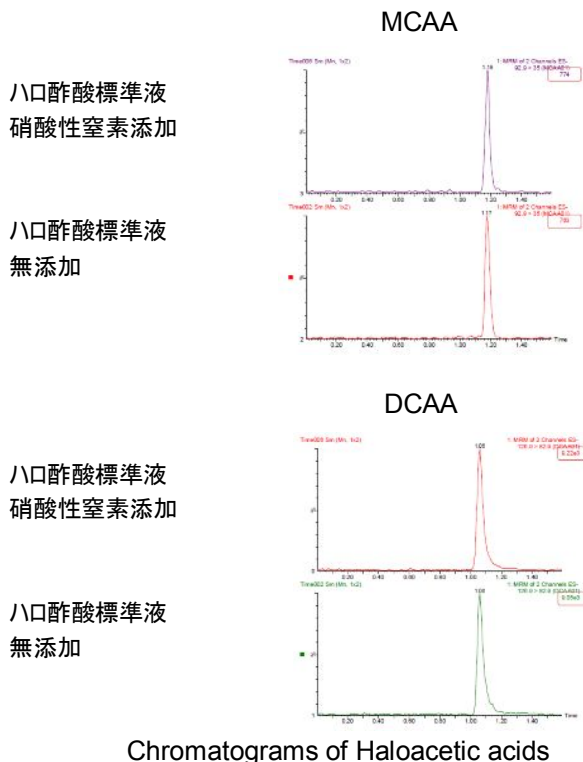
Function type: MRM of 1 channel

Chan Reaction Dwell(secs) Cone Volt. Col.Energy Delay(secs) Compound

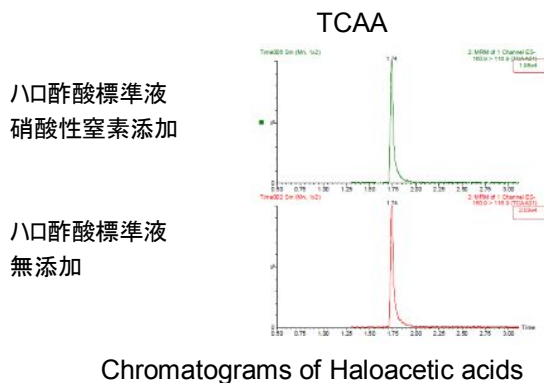
1 : 160.90 > 116.90 0.100 13.0 6.0 Auto TCAA01

(1)イオンサプレッションの確認

硝酸性窒素は逆相カラムでは保持しないためV0に溶出する。ハロ酢酸が十分カラムに保持されずに溶出されると硝酸性窒素によりハロ酢酸のイオン化が阻害されて感度低下が引き起こされる、今回検討を行ったLC条件ではハロ酢酸が十分にカラムに保持されるため、高濃度の硝酸性窒素含有試料(8mg/L)においてもイオンサプレッションによる感度低下は認められなかった。これにより原水の中のハロ酢酸類の定量分析に本分析条件が適用可能であることが示唆された。



Chromatograms of Haloacetic acids



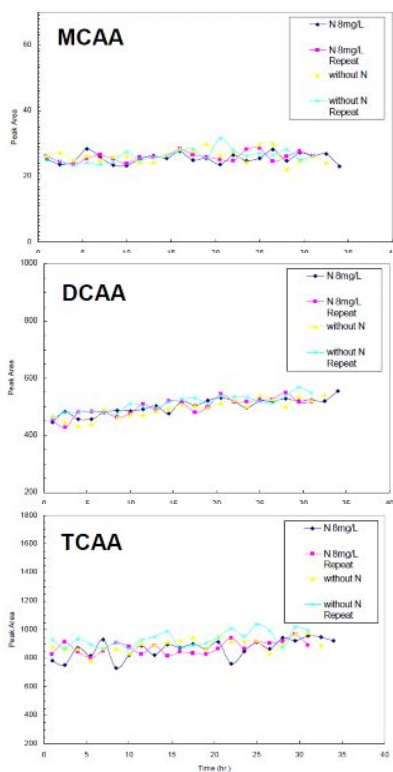
ンスをとることでDewettingを最小限にできるように設計されたACQUITY UPLC HSS T3カラムを用いることで比較的低濃度のギ酸移動相においてもハロ酢酸類を十分に保持し、かつ水質基準値を十分に満たすことのできる高感度分析が可能となった。

【まとめ】

最適なカラムケミストリを選択することで3種類のハロ酢酸類について十分な保持により試料中の無機イオンの影響を回避し、かつ水質基準値を十分に満たす高感度での測定が可能であった。

(2)再現性の確認

ハロ酢酸標準溶液、硝酸性窒素含有試料ともに同一パイアルから繰り返し注入測定を行った結果、MCAA、DCAA、TCAAの感度低下は認められず、良好な再現性が得られた。



Peak area change over time

(3)ハロ酢酸類分析に最適なカラムケミストリ

水質基準値を満たす十分な感度でハロ酢酸類を分析するために、比較的低いギ酸濃度で分析を行った。イオン解離した化合物を逆相のカラムで十分に保持するには移動相の有機溶媒比率を減らして化合物の固定相への親和性を高め、カラムへの保持力を高める手法が用いられる。従来のODSカラムは充てん剤表面の疎水性が高く極性化合物が十分保持せず、また有機溶媒比率の低い移動相条件下ではその疎水性によりDewetting(送液停止時のカラム圧減少により充てん剤の細孔から水系移動相が放出されて送液を再開しても移動相が細孔を通過せずに化合物が保持されずにカラムを素通りする減少)が起こる。本研究では、官能基密度を低減し細孔径とパラ