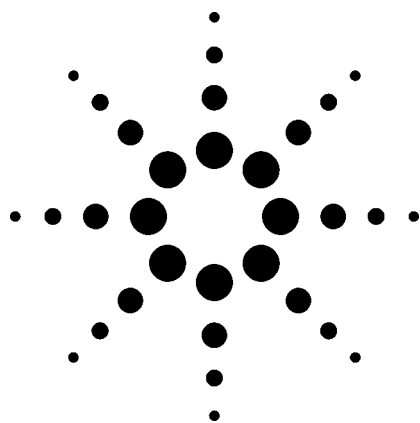




イオンクロマトグラフ／質量分析計を用いた 過塩素酸分析

アプリケーション

環境

著者

Johnson Mathew*
US EPA Region 6
Houston Laboratory
10625 Fallstone Road
Houston, TX 77099

Jay Gandhi
Metrohm-Peak, Inc.
12521 Gulf Freeway
Houston, TX 77034

Joe Hedrick
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Rd.
Wilmington, DE 19808

概要

本アプリケーションノートでは、イオンクロマトグラフ／質量分析計（IC-MS）を用いたサブppbレベルの過塩素酸陰イオンの測定手法を紹介します。EPA Method 314に基づくIC/MS手法は、当初、伝導度検出器と組み合わせたイオンクロマトグラフによる単一 ppb 範囲の測定として開発されたものです[1]。ここに紹介する IC/MS手法は、広範囲における過塩素酸の検出にあたって、メソッド314で述べられている干渉マトリックスの添加による影響を受けません。試験用に調製した模擬飲料水および排水の0.5および1 ppb レベルにおける回収率はおおむね90%-105%で、メソッドの検出限界（MDL）は100ppt未満でした。

はじめに

過塩素酸塩は一般に、ロケットやミサイルの固形燃料推進剤の酸化剤として用いられています。近年、コロラド川流域の帯水層（CA）の広い範囲で、過塩素酸塩による汚染が検出されています。他の地域でも汚染が明らかになっていますが、これまでのところ、カリフォルニア、ネヴァダ、アリゾナの各州でもっとも汚染が拡大しています。汚染された水を灌漑水に使用している作物からも、過塩素酸が高いレベルで検出されています。

飲料水および排水中の過塩素酸測定には、電気伝導度検出器を取付けたイオンクロマトグラフにが用いられます（EPA Method 314参照）。この手法は、飲料水における1-5 ppbレベルの分析については信頼性がありますが、複雑なマトリックス（地表水や排水など）になると、感度が大幅に低下します。マトリックス効果や、共溶出物質が、選択性を持たない電導度検出で検知されるため、誤って検出されたりされなかったりすることがあります。過塩素酸については、EPAや州環境当局が1-2 ppbレベルでの検出を目標としていることから、検出限界（DL）の引き下げが求められています。マトリックス濃度の高いサンプルの分析における信頼性も重要な要素です。

より低いDL（50-100 ppt）での過塩素酸の検出器としては、質量分析計の使用が有望視されていますが、信頼性の問題や、典型的なマトリックスにおけるエレクトロスプレーイオン化（ESI）シグナルの抑制に関連する問題点が数多く報告されています。抑制を低減するためには、目的成分と高濃度のマトリックスを完全に分離し、イオンソースおよびインターフェース部に同時に導入しないことが重要となります。



Agilent Technologies

イオンソースでのイオン抑制に加えて、過塩素酸陰イオンに帰属する m/z (99および101) には、硫酸塩のマイナー同位体に帰属する同じ質量の妨害イオンが存在します。このイオンは、イオンクロマトグラフ (IC) で使用するカラムや陽イオンサプレッサに含まれて溶出する合成樹脂に由来します。サンプルの浸出を抑え、干渉度の高いイオン、とりわけ硫酸塩イオンを効果的に分離するためには、分離カラムおよびサプレッサを適切に選択することが重要です。

イオンIC/MSに関する注意点

ESIや大気圧イオン化 (API) 手法を用いる場合、通常、移動相に不揮発性バッファを使用しません。一部のIC移動相試薬 (無機強酸など) は、APIソースへの直接導入には適しません。質量分析計のステンレス部と反応する移動相は絶対に避けなければなりません。無機塩の蓄積を避けるためには、IC に固有のコンポーネントであるサプレッサの使用が不可欠です。サプレッサは分離カラム通過後の溶離液から陽イオンを除去し、水素イオンに置き換えます。これにより、移動相やサンプルに含まれる不揮発成分から生じる塩がAPIソースに蓄積するのを防ぐことができます。システムの平衡化にあたっては、フローパスへのサプレッサ連結に先立ち、ICからのフローを1100MSD (質量選択検出器) のインテグラルバルブで迂回し、ESIソースに向かわないようにすることが重要です。こうすることで、サプレッサシステムが平衡またはオフライン状態のときに、水酸化ナトリウムなどの移動相構成物質がソースに侵入するのを防ぐことができます。汚染された溶液をソースに導入した場合は、MSシステムを大気開放し、ガラスキャピラリーに至る流路とキャピラリー本体の表面を洗浄する必要があります。この操作で、NaOH導入により低下した性能を回復させることができます。

機器および操作パラメータ

分析システムは、モジュラー式イオンクロマトグラフ (Metrohm-Peak社) と1100 MSD SL Quad (Agilent Technologies社) で構成されます。標準的なエレクトロスプレーインターフェースを使用しました。両方のシステムは、クロマトグラフオートサンブラの接点信号を質量分析計に接続して同期化しました。機器パラメータの詳細を表1に示します。Metrohm-Peak社のイオンクロマトグラフのパラメータおよび設定を表2に示します。

MetroSep ASUPP-5、Metrohm ASUPP-5 および Metrohm Advanced IC は、Metrohm Ltd の商標です。

表1. 操作パラメータ

Metrohm Advanced IC	
注入口サイズ	100 μ L
カラム	MetroSep ASUPP-5 (4 mm $\times$ 100 mm)
溶離液	3/7 v/v MeOH/30 mM NaOH
流量	0.8 mL/min
Agilent 1100 MSD	
チューニングモード	ネガティブモード "オートチューン"
V_{cap}	1400 V
乾燥ガス流量・温度	9 L/min @ 320 $^{\circ}$ C
ネブライザ圧	20 psig
フラグメンタ電圧	140 V
デュエルタイム m/z 99	1秒
デュエルタイム m/z 101	1秒

表2. Metrohm-Peakイオンクロマトグラフのパラメータおよび設定

ハードウェア	
Metrohm Advanced IC は、Metrohm 788 オートサンブラ、830 インターフェースと ICNet 2.3 ソフトウェア、833 サプレッサモジュール、819 Advanced IC 検出器、820 IC Separation Center、818 IC シリアルデュアルピストンポンプで構成されています。	
設定	
カラム	Metrohm ASUPP-5 – 100 (4 mm $\times$ 100 mm) p/n 6.1006.510
溶離液	3/7 v/v MeOH/30 mM NaOH
再生液	5/95 v/v MeOH/60 mM HNO ₃
洗浄液	5/95 v/v MeOH/H ₂ O
流量	0.8 mL/min
サプレッサ再生液 および洗浄液流量	0.5 mL/min
MSD と IC を同期してスタートするため、MSD の com ポートと 820 IC Separation Center の events を接続。	

IC/MSによる過塩素酸分析の機器パラメータについては、マトリックスと目的成分イオンの共溶出による抑制を低減または排除すること、およびエレクトロスプレーインターフェースにおけるマトリックスの実質的濃度を低下させることを主眼に設定しました。こうした方法で操作条件を設定すると、システムの信頼性および安定性は向上しますが、感度が低下する可能性もあります。

マトリックス抑制を低減するために、内径2-mmではなく内径4-mmのカラムを選択しました。カラム直径が大きいと、希釈効果によりシステム内の実質的なマトリックス濃度が低下します。また、内径の大きいカラムでは、本分析で行ったような100- μ Lの注入が可能のため、大容

量を簡単に処理することができます。内径の小さいカラムに比べ、カラム容量もはるかに大きくなるため、マトリックスや高濃度物質のピーク形状が向上し、目的成分ピークとの分離能が向上します。こうした要因により、ほとんどのマトリックスが目的成分から分離され、抑制効果が低減または除去されます。

分離に使用するイオン交換カラムに加え、サンプルマトリックス中のあらゆるナトリウムおよびカルシウムを除去する目的で、サプレッションカラムを使用しました。これらの不揮発性の陽イオンは、目的成分の検出に直接的な影響はありませんが、全蒸発残留物（TDS）濃度の高いサンプルを分析した場合、移動相に溶けていたものがインターフェースに蓄積する可能性があります。こうした蓄積は、システムの長期安定性に影響を及ぼします。金属陽イオンを完全に除去すれば、水素イオンのみが質量分析計のインターフェース部へ移動することになるので、抑制のリスクも低下します。

1100 MSD ESIインターフェースは、比較的速い流量でも高感度を維持するように設計されており、100 ppt未満という検出限界が実現しています。ESIインターフェースの多くは、流量の影響をきわめて受けやすく、内径

4-mmのカラム向けの流量では分析性能が低下してしまいます。1100 MSD ESIインターフェースは、低流量での分析にもっとも効果を発揮しますが、他のインターフェースとは違い、流量が多くても感度が大幅に低下するようなことはありません。

結果

500 ppt相当の過塩素酸塩標準液のIC/MSトレースを図1に示します。過塩素酸（ m/z 99）で良好なシグナル/ノイズ比（S/N）を示しています。過塩素酸は約13分のリテンションタイム（RT）で溶出しています。

Metrohm-Peak ICでは3本のサプレッサをセットで使用しており、分析の途中で、まだ陽イオンで飽和していないサプレッサに順次切り換えて使用することができます。1本目のサプレッサを使用している間に、2本目のサプレッサを再生し、さらに3本目のサプレッサを超純水で洗浄します。1.5分および9分で見られる突然のシグナル変動は、サプレッションカラムシステムの自動運転で、洗浄されたサプレッサから超純水がフローパスへと流れ込んで生じたものです。

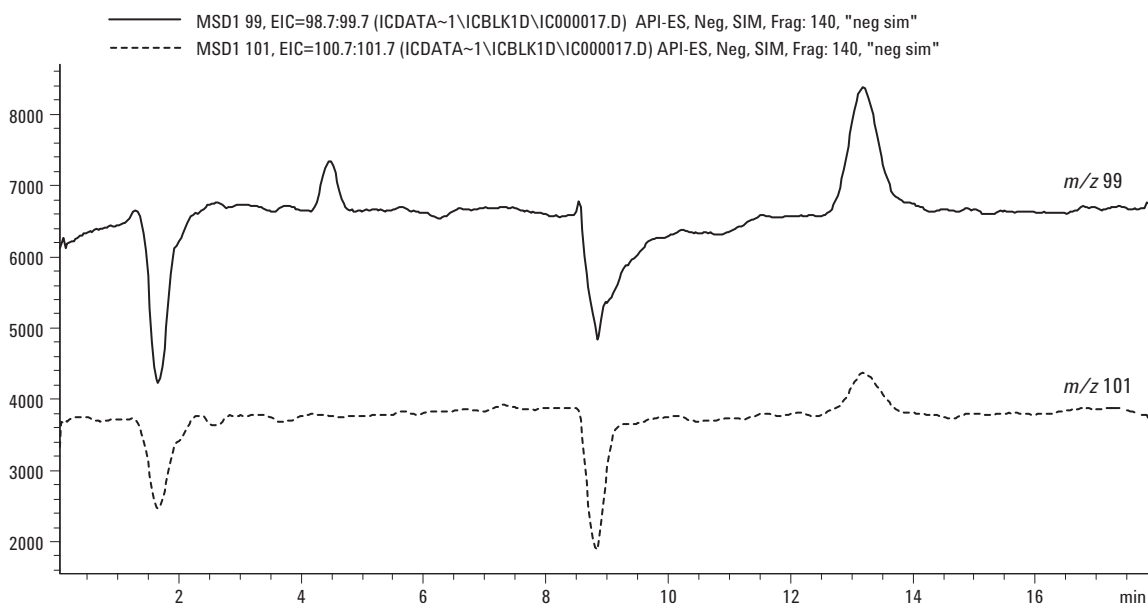


図1. 0.5-ppt相当の過塩素酸標準液の単一イオンクロマトグラム（ m/z 99および101）

分析時におけるサプレッサの継続的な切り換えおよび再生は、マトリックス濃度の高いサンプルの分析ではきわめて重要となります。図2は、硫酸塩、塩化物、炭酸塩各1000-ppmが混在するマトリックスにおける過塩素酸1-ppbの m/z 99および101のトレース図を示しています。クロマトグラムの初期ではマトリックス効果が顕著に見られ、モニターしている質量が干渉を受けているほか、全体的なシグナルも抑制されています。9分でサプレッサが切り換わったことにより、洗浄済みのサプレッサが稼動し、過塩素酸イオンが検出されています。その結果、13分付近では過塩素酸のシグナルが非常に明確に表れています。

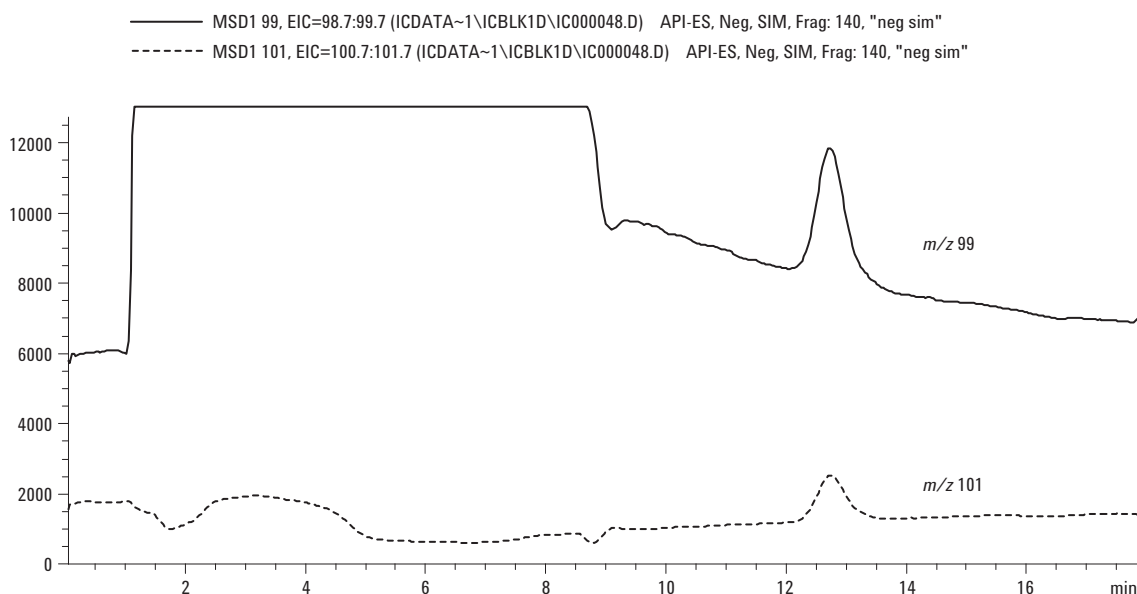


図2. Cl^- 、 CO_3^{2-} 、 SO_4^{2-} 各1000 ppmが混在するマトリックスにおける過塩素酸1-ppbの単一イオンクロマトグラム (m/z 99および101)

図3および図4には、0.1から5 ppbまでの過塩素酸塩酸 (m/z 99および101) の検量線データを示しています。測定濃度範囲全体において、両質量の検量線で直線性が得られています。

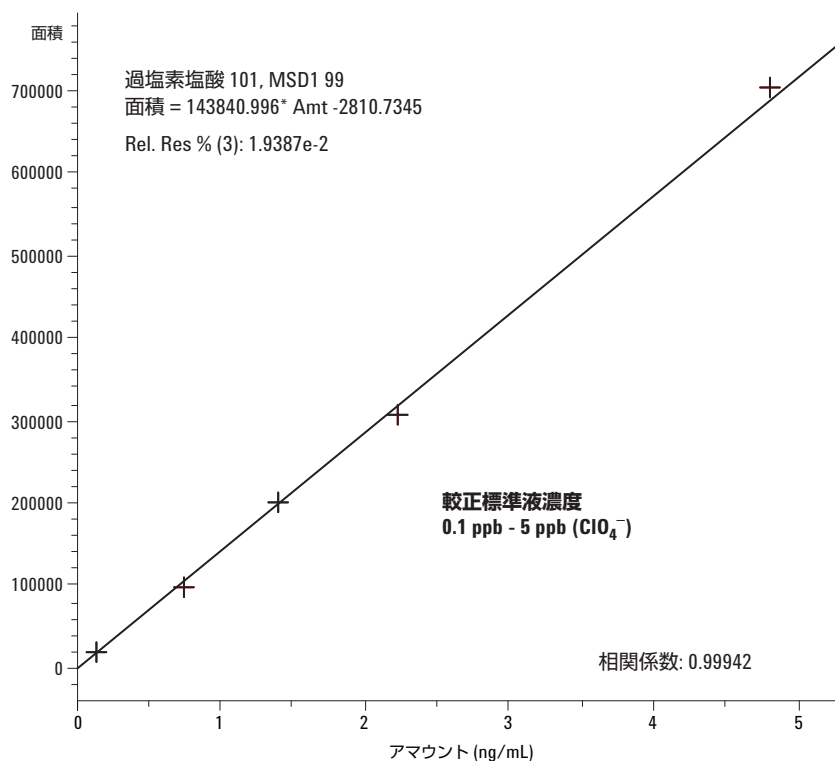


図3. 検量線データ (m/z 99)

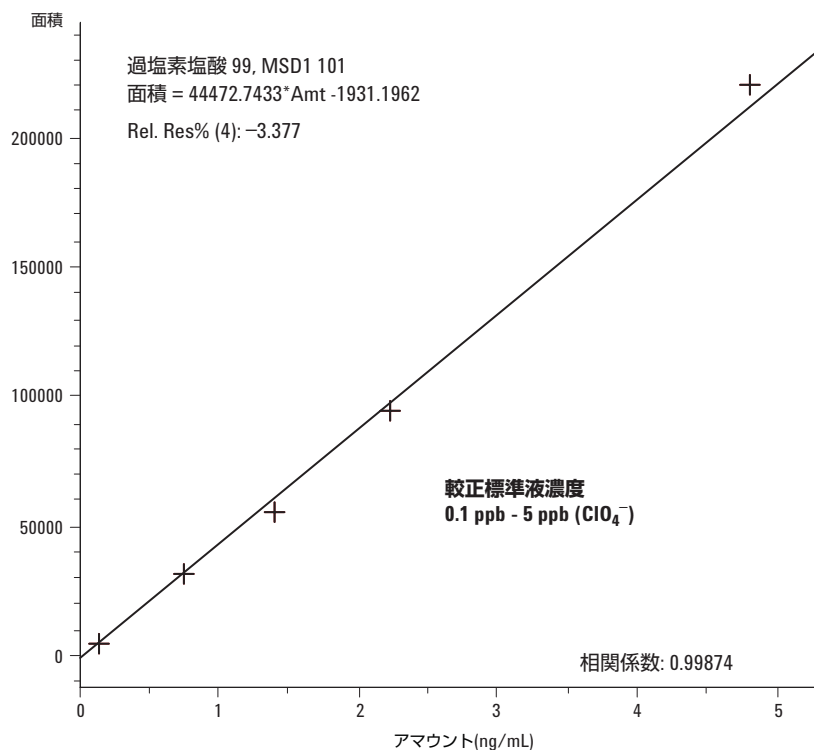


図4. 検量線データ (m/z 101)

図5は、それぞれ過塩素酸1-ppbを添加したマトリックスのセットにおける m/z 99シグナルのイオンクロマトグラムを示しています。干渉作用のない標準溶液と添加マトリックス溶液とのあいだで、過塩素酸のリテンションタイムがわずかに変化していることがわかります。ICでは、分析初期において分離カラムがオーバーローディング状態となることから、こうしたRTの変化は一般的に発生します。過塩素酸の検出および測定に影響はありません。必要であれば、少量のマトリックスで前処理した標準溶液を用いることで、標準溶液と添加マトリックス液に見られるRTの差異を回避することもできます。

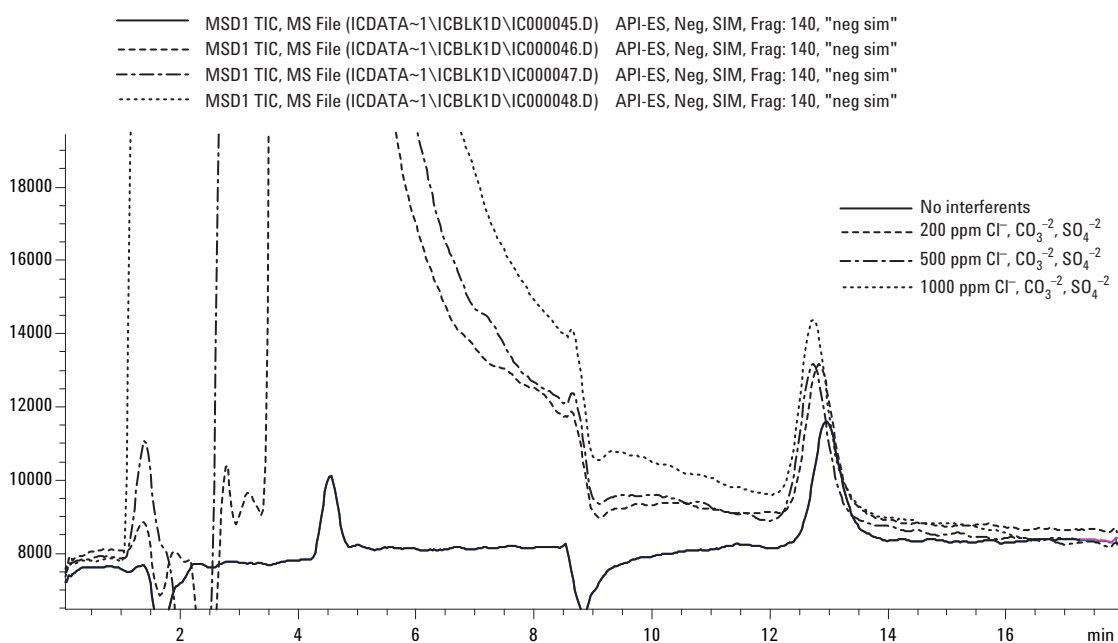


図5. 添加マトリックス液と1-ppb過塩素酸標準溶液のオーバーレイクロマトグラム

表3は、0.49 ppbおよび0.78 ppbの過塩素酸を添加した脱イオン水を反復注入した結果を示しています。脱イオン水というクリーンなマトリックスであることから、予想通り、いずれの質量のイオンでも良好な回収率が得られています。精度についても、どちらの質量のイオンでもきわめて良好な結果が得られています。

表3. 0.48 ppbおよび0.78 ppbの過塩素酸塩を脱イオン水に添加した分析結果

0.48-ppb 繰返し分析					
サンプル ID (公称) ppb	実際濃度 ppb	検出濃度 ppb m/z 99	% 回収率 m/z 99	検出濃度 ppb m/z 101	% 回収率 m/z 101
0.5	0.480	0.487	101.46	0.519	108.13
0.5	0.480	0.477	99.38	0.471	98.13
0.5	0.480	0.460	95.83	0.490	102.08
0.5	0.480	0.477	99.38	0.492	102.50
0.5	0.480	0.520	108.33	0.505	105.21
0.5	0.480	0.494	102.92	0.509	106.04
平均	0.480	0.486	101.22%	0.498	103.68%
標準偏差		0.020	0.042	0.017	0.035
RSD (%)		4.18	4.18	3.41	3.41
0.78-ppb 繰返し分析					
サンプル ID (公称) ppb	実際濃度 ppb	検出濃度 ppb m/z 99	% 回収率 m/z 99	検出濃度 ppb m/z 101	% 回収率 m/z 101
1.0	0.780	0.756	96.92	0.768	98.46
1.0	0.780	0.810	103.85	0.830	106.41
1.0	0.780	0.776	99.49	0.772	98.97
1.0	0.780	0.799	102.44	0.754	96.67
1.0	0.780	0.788	101.03	0.768	98.46
1.0	0.780	0.792	101.54	0.807	103.46
平均	0.780	0.787	100.88%	0.783	100.41%
標準偏差		0.019	0.024	0.029	0.037
RSD (%)		2.40	2.40	3.70	3.70

さらに、より困難な分析で本システムの性能をテストしました。EPA Method 314に従って用意した3種類の濃度のマトリックスに、過塩素酸1-ppbを添加した場合の分析結果を図4に示しています。9つのサンプルの各セットを分析する毎に、ブランクとキャリブレーション評価試料を分析してサンプルをシーケンスで分析しました。すべてのマトリックスにおいて、ppbレベルの目的成分で良好な回収率が得られ、いずれのイオンでも、平均回収率は全マトリックスで95%を上回っています。本システムによる分析手法では、きわめて高濃度なマトリックスにおいても干渉因子の影響を受けないことがマトリックスの回収率データから見てとれます。

表4. 過塩素酸塩を添加した各種マトリックスの分析結果

サンプル	実際濃度 ppb	過塩素酸			
		検出濃度 ppb m/z 99	% 回収率 m/z 99	検出濃度 ppb m/z 101	% 回収率 m/z 101
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各200 ppm	0.780	0.799	102.44	0.784	100.51
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各500 ppm	1.000	0.804	80.40	0.808	80.80
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各1000 ppm	1.000	0.930	93.00	0.940	94.00
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各200 ppm	0.780	0.700	89.74	0.770	98.72
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各500 ppm	1.000	0.870	87.00	0.860	86.00
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各1000 ppm	1.000	0.973	97.30	0.986	98.60
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各200 ppm	0.780	0.810	103.85	0.796	102.05
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各500 ppm	1.000	0.851	85.10	0.846	84.60
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各1000 ppm	1.000	0.990	99.00	0.977	97.70
ブランク	0.000	0.000		0.000	
CC 1.0 ppb (干渉なし)	0.780	0.747	95.77	0.742	95.13
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各200 ppm	0.780	0.799	102.44	0.777	99.62
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各500 ppm	1.000	0.920	92.00	0.921	92.10
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各1000 ppm	1.000	1.000	100.00	1.040	104.00
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各200 ppm	0.780	0.860	110.26	0.830	106.41
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各500 ppm	1.000	0.930	93.00	0.913	91.30
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各1000 ppm	1.000	1.090	109.00	1.050	105.00
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各200 ppm	0.780	0.800	102.56	0.850	108.97
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各500 ppm	1.000	0.890	89.00	0.904	90.40
Cl ⁻ , CO ₃ ⁻² , SO ₄ ⁻² 各1000 ppm	1.000	1.040	104.00	1.070	107.00
平均 (%)			96.67		97.10
標準偏差			0.082		0.080

表5には、他のマトリックスにおける過塩素酸の回収率データを示しています。これらのマトリックスでは、過塩素酸が存在する場合には良好な回収率が得られていますが、さらに重要なのは、過塩素酸が存在しないことがわかっているサンプルや、電導度検出手法による過塩素酸の測定を困難にする干渉因子を高濃度で含むサンプルで、過塩素酸が検出されていない点です。

表5のサンプル5は排水サンプルで、未知濃度の過塩素酸（ただし10 ppt未満）およびきわめて高濃度のスルホン酸系洗剤が含まれています。スルホン酸系洗剤は過塩素酸と共溶出することが知られており、電導度検出による分析では誤って有りと判定される率が高くなります

(ppbあたり100)。単一の四重極質量分析計を選択イオンモニタリングモードで使用した場合には、洗剤に起因するシグナルは発生しないため（99および101以外の質量）、過塩素酸を含まないサンプルで誤って有りと判定されることはありません。

サンプル6および6A（表5）は、過塩素酸が含まれていることがわかっている地下水と、サンプル6に過塩素酸塩1-ppbを添加したものです。サンプル8および9はレタス抽出液で、野菜分析における本手法の有効性を示しています。野菜における過塩素酸濃度は、灌漑水よりも大幅に高いことが明らかになっています。

表5. さまざまなマトリックスにおける各種濃度の添加回収率

サンプル提供：Metrohm-Peakカスタマー

サンプル ID	実際濃度 ppb	過塩素酸データ				メモ
		検出濃度 ppb m/z 99	% 回収率 m/z 99	検出濃度 ppb m/z 101	% 回収率 m/z 101	
サンプル-1	0.50	0.44	88.00	0.51	102.0	0.5 ppb、蒸留水
サンプル-2	1.00	0.91	91.00	1.01	100.7	1.0 ppb、蒸留水
サンプル-3	1.00	0.95	95.16	1.00	99.7	1.0 ppb、水道水
サンプル-4	0.42	0.41	97.33	0.43	102.1	0.42 ppb、地下水
サンプル-5	?	0.00		0.00		未知濃度、ただしサンプルにスルホン酸系界面活性剤を混入
サンプル-6	0.35	0.30	86.93	0.33	95.0	0.35 ppb、地下水
サンプル-6A	1.35	1.18	87.41	1.36	100.6	サンプル-6 + 1 ppb 添加
サンプル-7	0.00	0.00	100.00	0.00	100.0	過塩素酸なし、地下水
サンプル-8	0.00	0.00	0	0.00		レタス抽出液
サンプル-9	7.92	7.35	92.86	7.41	93.6	レタス抽出、過塩素酸塩添加

図6は、レタス分析のクロマトグラムを示しています。過塩素酸のピーク周辺の干渉が抑えられていることがわかります。ブランクおよび過塩素酸塩添加のレタスサンプルのどちらにも、急激なシグナル低下が見られますが、これはエレクトロスプレーソースを通過する他の大量の溶出物質により、バックグラウンドシグナルのイオン化が抑制されるためです。この種のサンプルでは、過塩素酸の溶出面積が大量の共溶出物質により埋められてしまうため、従来の電導度検出では分析が不可能でした。

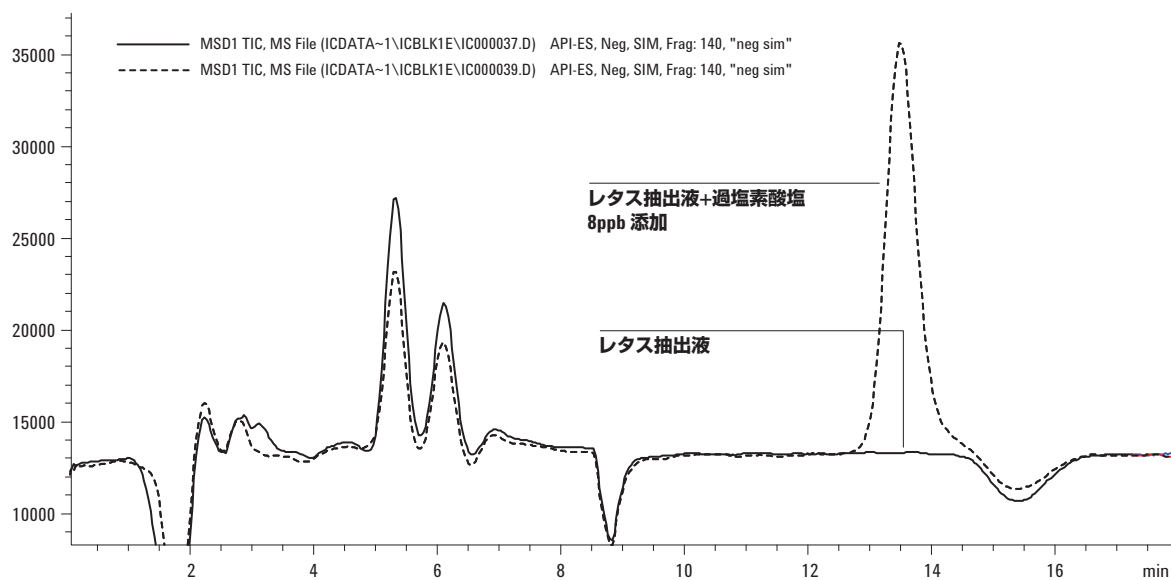


図6. レタス抽出液および添加液の分析

図7の例では、本システムのキャリーオーバーがきわめて低いことがわかります。ここでは、高濃度マトリックス中の過塩素酸塩500-ppb標準液を分析しました。高濃度標準液の分析に引き続いて行ったブランク分析では、前分析で注入された標準液やマトリックスの干渉を受けていないことが示されています。

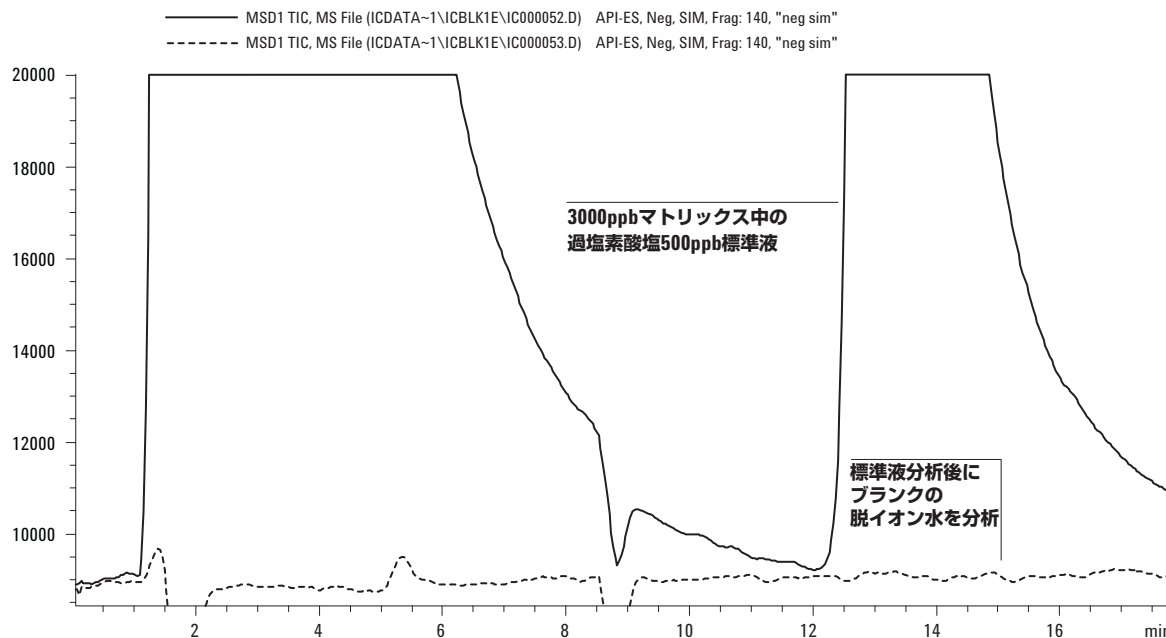


図7. 高濃度マトリックス中の500-ppb標準液分析に引き続き、ブランクを分析

まとめ

バックグラウンド干渉を抑え、信頼性を向上させるように機器条件を設定すれば、定組成ICシステムおよびシングル四重極1100 MSDは、本アプリケーションのような分析で極めて高い性能を発揮します。このようなシステムによる過塩素酸の分析は、サブppbレベルでの有効性、安定性、および正確性で優れていることが示されました。また、本手法では、一般的な四重極質量分析計と組み合わせたICの有効性と効果が実証されました。比較的単純なメソッドパラメータと丈夫な機器を使用することで、複雑なマトリックスにおける過塩素酸のIC/MS分析で今まで見られていたような問題点の多くを解決することができます。

参考文献

1. EPA METHOD 314.0, "Determination of Perchlorate in Drinking Water Using Ion Chromatography", Revision 1.0. November 1999, US EPA, Office of Ground Water and Drinking Water, publication 815-B-99-003
<http://www.epa.gov/ogwdw/methods/met314.pdf>

詳細情報

当社の製品およびサービスの詳細情報については、当社Webサイト (www.agilent.com/chem/jp) をご覧ください。

お問い合わせは： 0120-477-111
横河アナリティカルシステムズ株式会社
〒192-0033 東京都八王子市高倉町 9 - 1

*市販製品、非営利組織、プロセス、商品名でのサービス、商標、メーカー、その他の具体名に関する本文中での言及は、必ずしもアメリカ合衆国政府の承認、推奨、および支援を意味または示唆するものではありません。本文中で述べられた著者の見解および意見は、必ずしもアメリカ合衆国政府の見解を反映したものではありません。また、ここで述べられた見解を宣伝および製品推奨の目的で使用することを禁じます。

MetroSep ASUPP-5、Metrohm ASUPP-5 および Metrohm Advanced IC は、Metrohm Ltd の商標です。

Agilentは、本文書に含まれる誤り、および本文書の内容または使用に関連して、付随的または間接的に引き起こされる損害について、一切の責任を負いません。

本文書に記載の情報、説明、および仕様は、予告なく変更されることがあります。

© Agilent Technologies, Inc. 2004

Printed in the USA
March 10, 2004
5989-0816JAJP



Agilent Technologies