

P-106 QTOFによるMRM測定を用いたハロ酢酸の定量

○ 秋山 愛子¹, 佐藤 香代¹, 会田 祐司¹ (¹ サイエックス アプリケーションサポート部)

【はじめに】

ハロ酢酸類(クロロ酢酸(MCAA)、ジクロロ酢酸(DCAA)、トリクロロ酢酸(TCAA))は水道水質基準(厚生労働省)として基準値が定められており、近年、トリプル四重極質量分析計(QqQ)のLC-MS/MSを用いたMRM測定による検査法が広く用いられている。

一方、四重極飛行時間(QTOF)型のLC-MS/MSは、MSおよびMS/MSデータを精密質量で取得できることから定性用途で広く用いられてきた。更にQTOFによるMRM測定が可能になれば、より高い選択性で定量を行うことが可能であり、クロマトグラムのノイズピークやバックグラウンドの低減が期待できる。今回、QTOF型のSCIEX X500R QTOFシステムを用いてハロ酢酸類の分析法を検討した。

【測定試料】

標準液として混合標準液(ハロ酢酸混合標準液、和光純薬工業製)をメタノール、次いで精製水を用いて希釈し、次の濃度(2, 5, 10, 20 ng/mL)に調製を行った。

また、陰イオンによるマトリックス効果を確認するため、精製水に硝酸イオンが10 µg/mL、塩化物イオンが200 µg/mL、硫酸イオンが250 µg/mLになるように添加した陰イオン添加精製水を調製し、そこにハロ酢酸がそれぞれ2 ng/mLになるよう添加した試料を調製した。

【測定条件】

LC

システム：ExionLC™ AD (SCIEX)

カラム：InertSustain C18 HP 3 µm, (GL Science)

移動相： A: 0.1 vol% 酢酸含有精製水

B: 0.1 vol% 酢酸を含むメタノール

B：5% (0 min)-5% (1 min)-95% (2.5 min)-95% (3 min)
-5% (3.01 min)-5% (5 min)

流速：0.9 mL/min

カラムオープン：40℃

注入量：20 µL

MS

システム：X500R QTOF System (SCIEX)

イオン化法：ESI (Negative Mode)

測定モード：MRM^{HR}モード

MRM^{HR} transitions：Table 1

Mass Range：MS: *m/z* 70-200

Spray Voltage：-3500 V

Temperature：400℃

Run Time：5 min



Software

データ取得から定量・構造推定などのデータ解析まで一つのソフトウェアで対応可能なSCIEX OS Software

SCIEX X500R QTOF System を用いたサンプル測定ワークフロー

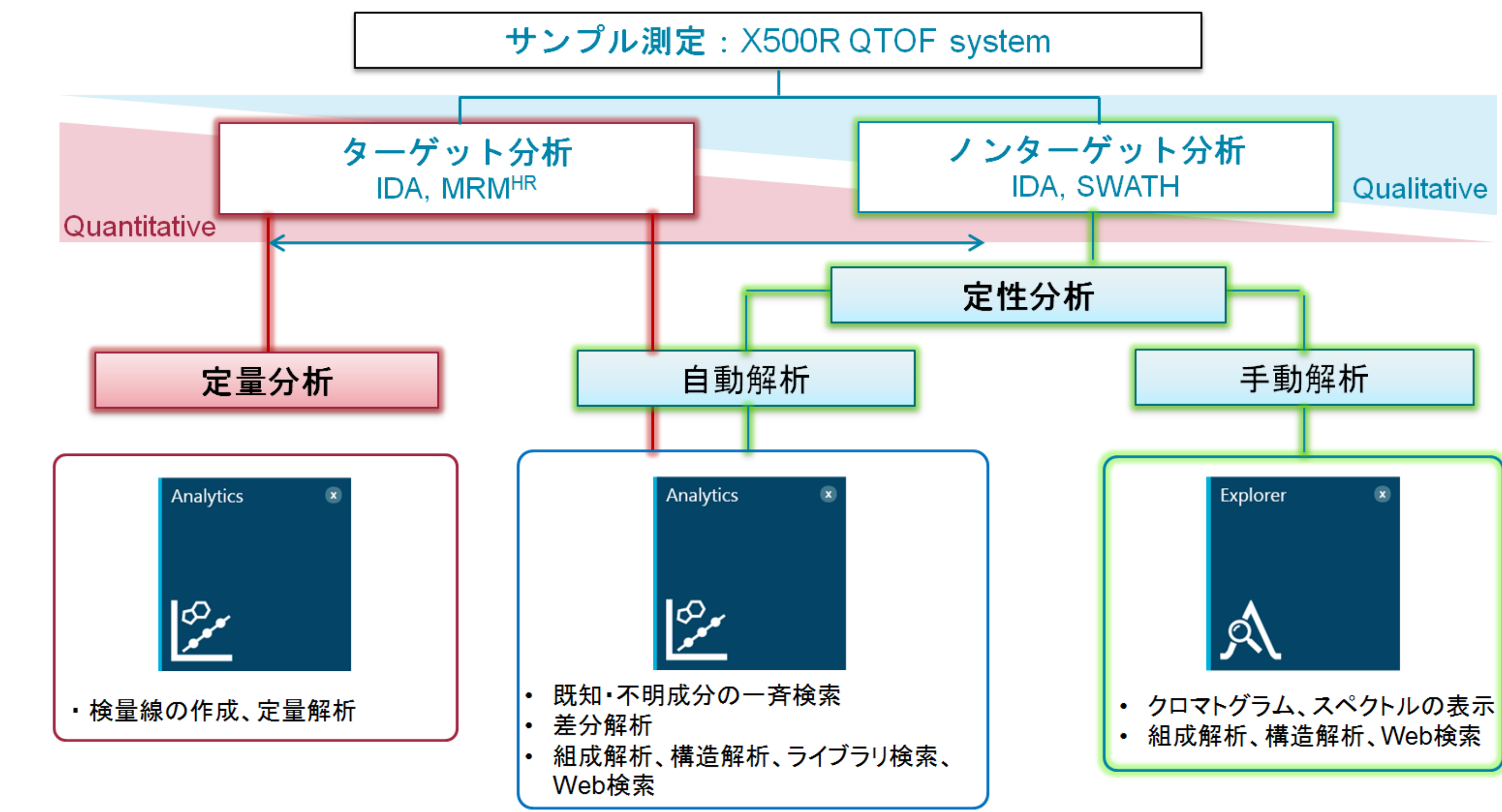


Figure 2 SCIEX X500R QTOF System を用いたサンプル測定ワークフロー

MRM^{HR} (High Resolution定量)とは

MRMの選択性とTOFのHigh Resolutionを組合せた新時代の測定法。

夾雑ピークの排除やバックグラウンドノイズの低減が期待できる。

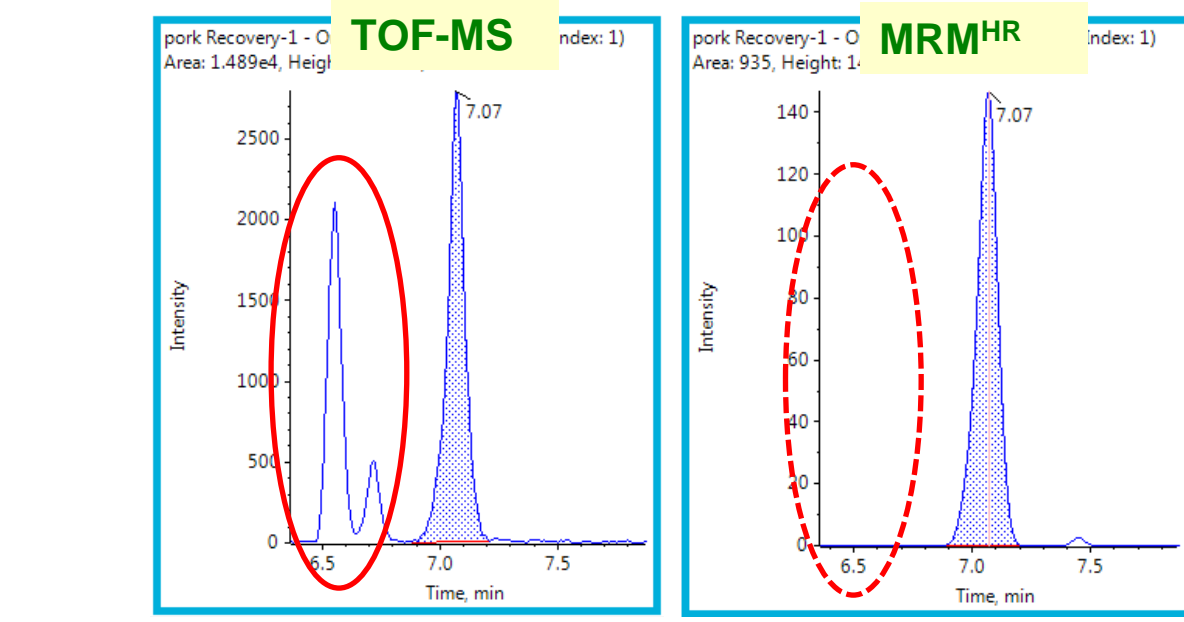


Figure 3 夾雑ピークの排除

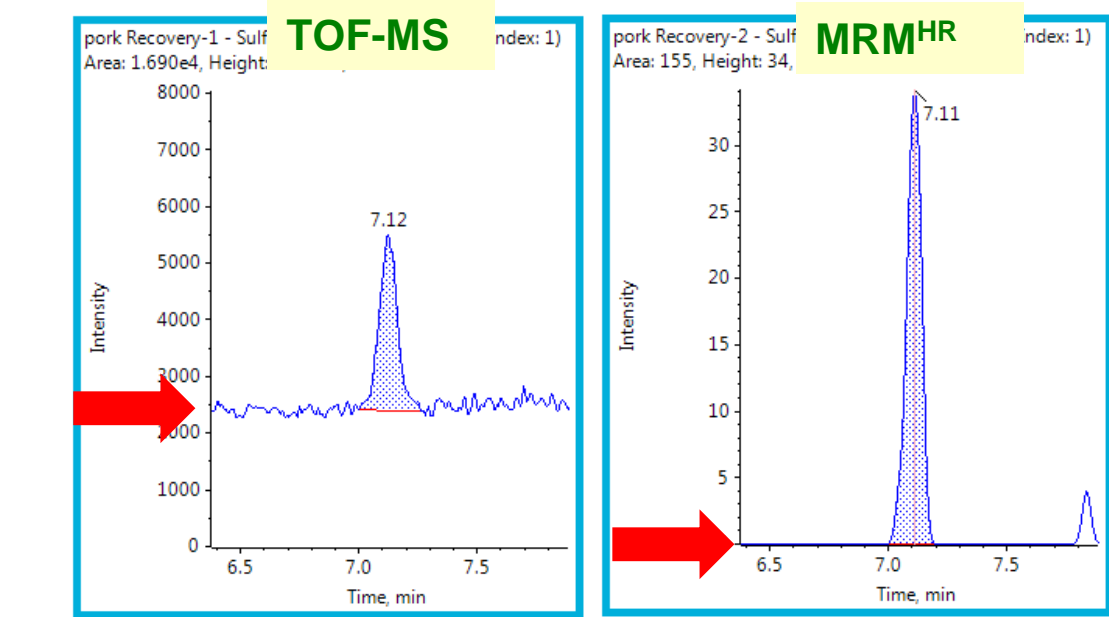


Figure 4 バックグラウンドノイズの低減

SCIEX OS Softwareを用いたMRM^{HR}測定メソッドの作成

四重極のMRMと同様に測定メソッドを作成できる。

Table 1 MRM^{HR} transitions

			Q1: プリカーサーイオン	TOF(Q3): フラグメントイオン	Accumulation time (sec)		
			Precursor ion (Da)	Fragment ion (Da)		Decustering potential (V)	Collision energy (V)
1	Compound ID	Group name	93.00	34.9691	0.1000	-10	-15
2	MCAA		127.00	82.9455	0.0500	-10	-10
3	DCAA		161.00	116.9069	0.1000	-20	-10
	TCAA						

【結果および考察】

今回の検討では、SCIEX X500R QTOFシステムを用いて、水道法におけるハロ酢酸類の基準の1/10濃度(2 ng/mL)が感度良く測定できることが確認できた(Figure 5,6)。



Figure 5 SCIEX OS Software 定量解析画面

MCAAの定量解析画面。四重極のMRMと同様に、化合物毎に定量結果、検量線、クロマトグラムを表示。

検量線と再現性

ハロ酢酸類3成分における検量線の直線性、n=5測定の再現性を確認した(Table 2)。

全てのハロ酢酸類で基準の1/10濃度から検量線を作成でき、相関係数(r)は>0.999以上であった(Figure 7)。また、基準の1/10濃度(2 ng/mL)での再現性は10%(%CV, n=5)以下であった。

Table 2 検量線および再現性結果一覧

Compound Name	検量線(重み付け:無し)			再現性(n=5)			
	最小 (ng/mL)	最大 (ng/mL)	R	測定濃度 (ng/mL)	平均値 (ng/mL)	SD	%CV
MCAA	2	20	1.00000	2.00	2.24	0.10	4.7
DCAA	2	20	0.99919	2.00	2.21	0.12	5.6
TCAA	2	20	0.99953	2.00	2.00	0.20	9.9

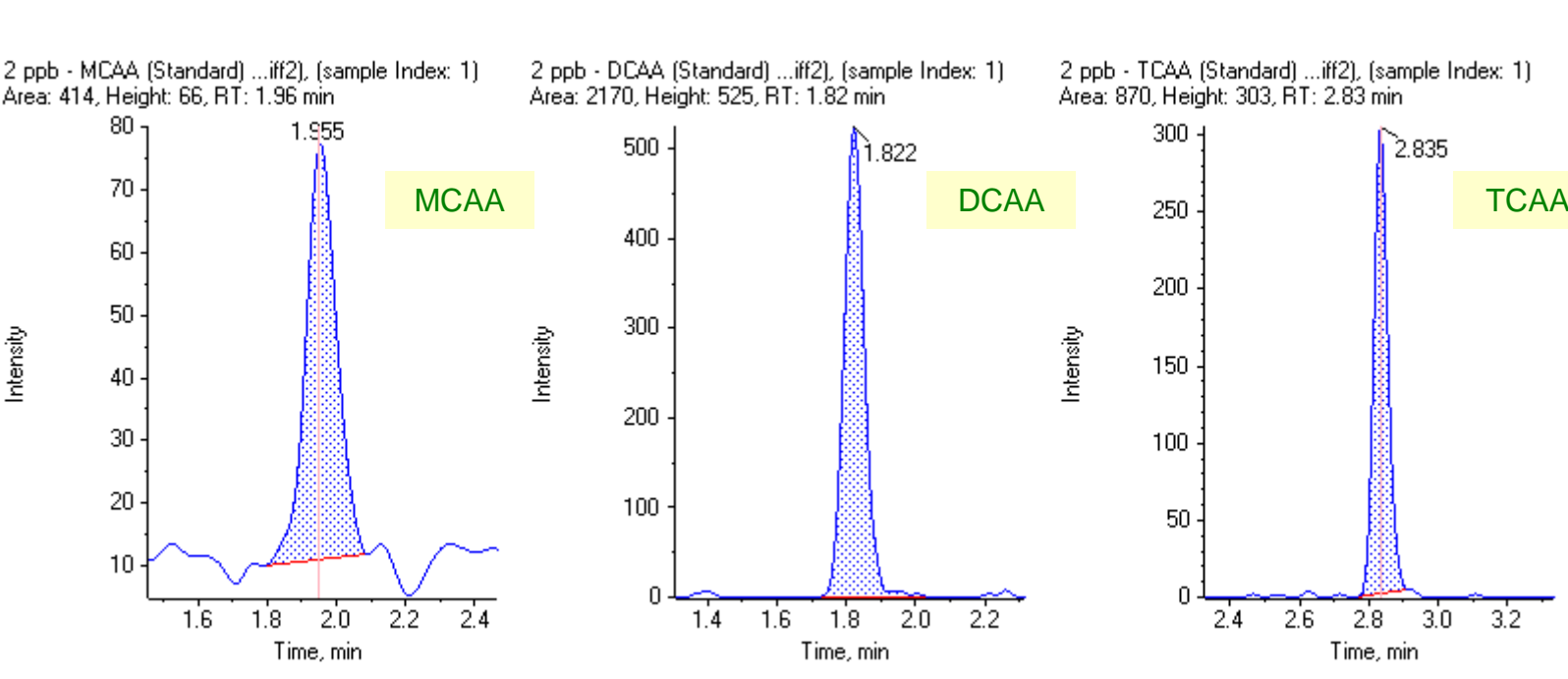


Figure 6 標準液(2 ng/mL)の各ハロ酢酸のクロマトグラム

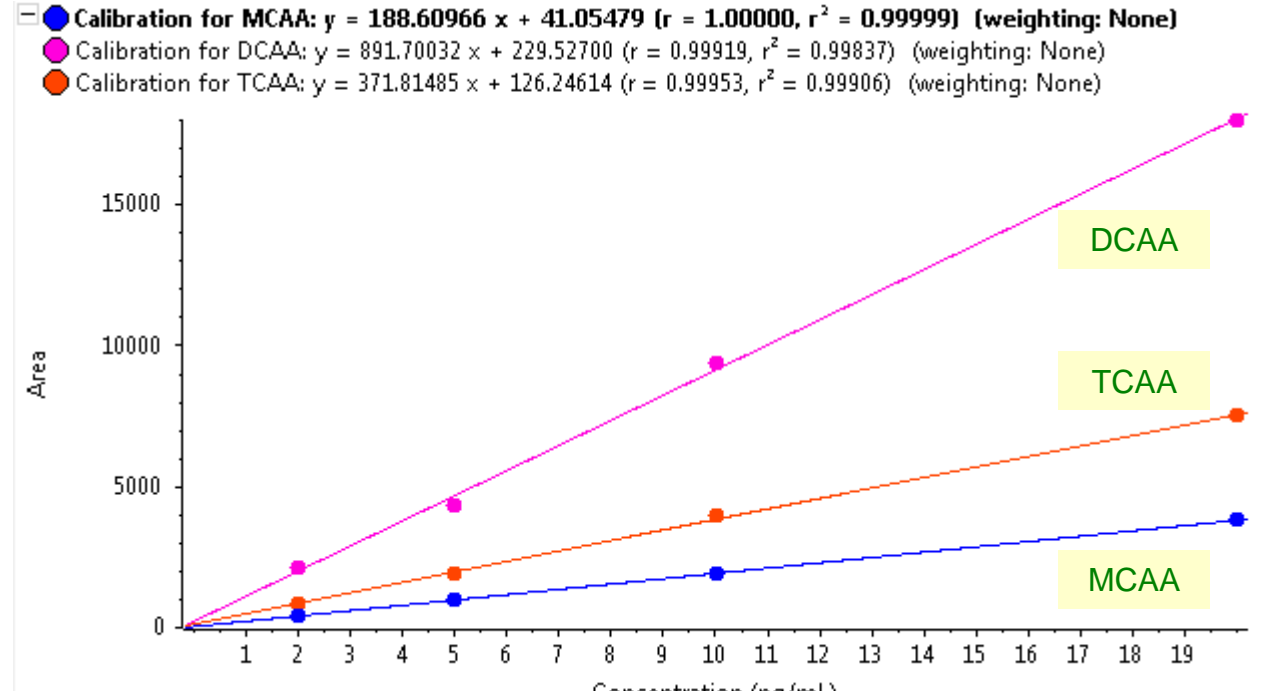


Figure 7 各ハロ酢酸の検量線

陰イオン添加精製水へのハロ酢酸添加回収試験

水道水には硝酸、塩化物、硫酸等の陰イオン類が含まれており、それらの濃度によってはハロ酢酸類の分析においてイオン化抑制による回収率の低下を引き起こすことがあるとされている。このマトリックス効果を確認するため、これら陰イオンを模擬的に添加した陰イオン添加精製水を用いて、ハロ酢酸類の添加回収試験を行った。

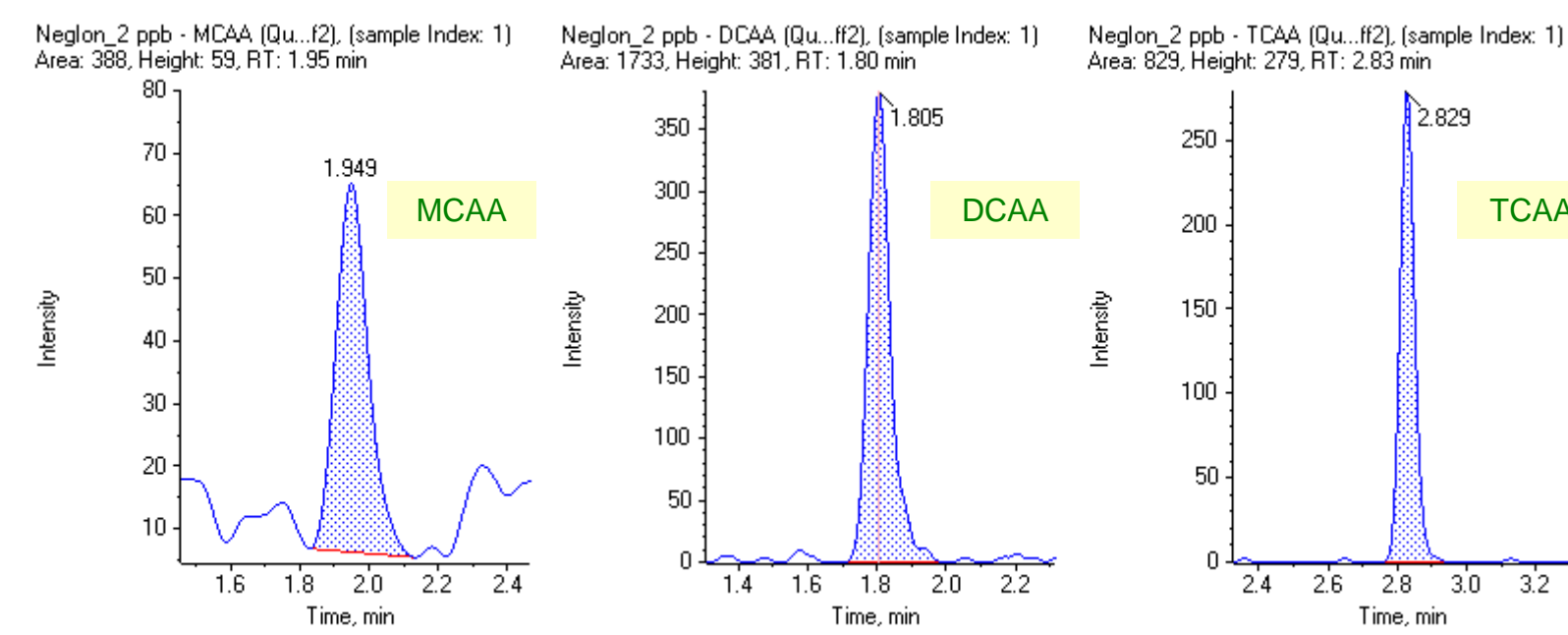


Figure 8 各ハロ酢酸(2 ng/mL)を添加した陰イオン添加精製水のクロマトグラム

陰イオン添加精製水にハロ酢酸類を2 ng/mL添加し、n=5測定の再現性と平均回収率を確認した。

全てのハロ酢酸類で再現性は7.5%(%CV, n=5)以下で、88%以上の回収率が確認できた(Table 3)。

Table 3 陰イオン添加精製水へのハロ酢酸添加回収試験結果一覧

Compound Name	再現性(n=5)			平均回収率 (%)
	添加濃度 (ng/mL)	濃度平均 (ng/mL)	%CV	
MCAA	2.00	1.77	3.4	88.5
DCAA	2.00	1.79	7.5	89.5
TCAA	2.00	1.93	5.4	96.5

【結論】

QTOF型のSCIEX X500R QTOFシステムを用いることで、ハロ酢酸類を低いバックグラウンドで、かつ感度良く測定することが可能であった。また、高濃度の陰イオン添加精製水を用いた添加回収試験においても良好な回収率が得られた。

【参考文献】

- 水質管理目標設定項目の検査方法(平成15年10月10日付健水発第1010001号)(最終改正 平成28年3月30日) 厚生労働省健康局水道課
- Direct injection-LC-MS/MS(ESI)を用いた水質GC/MS対象農薬類の検討(第24回環境化学討論会、会田 祐司、ポスター発表)

TRADEMARKS/LICENSEING

AB Sciex is doing business as SCIEX.
© 2017 AB Sciex. For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license.