



Application Note AN-S-404

EPA 300.1準拠によるイオンクロマトグラフを使用した水の品質管理試験

Boost lab efficiency with automated eluent generation and single-run analysis of anions and disinfection byproducts

標準的な分析方法である米国EPA法300.1(パートAおよびB)、ISO 10304-1、およびISO 10304-4は、人の健康に影響を及ぼす水質汚染物質を監視する際の適合性を確保するために行われます。特に消毒副生成物(DBPs)は、発がん性や生殖機能への影響と関連しています [1-5]。EPA 300.1パートAおよび

ISO 10304-1では、主要な無機陰イオンのイオンクロマトグラフィによる定量分析の要件が規定されています。有害なDBPs(亜塩素酸塩および塩素酸塩)は、ISO 10304-4およびEPA 300.1パートB(さらに臭素酸塩およびジクロロ酢酸 / DCAA)に含まれています。

相対濃度差が大きい分析対象物の検出限界(MDL)を達成することは困難な場合があります。高容量のアニオン交換カラム **Metrosep A Supp 21**(水酸化物系溶離液用)と、サプレッサを組み合わせることで、一度の分析でこれらのニーズを満たす分析が可能となります。また、**溶離液自動生成装置 948 Continuous IC Module, CEP**により、KOH溶離液

の生成が自動化され、手動での調製が不要になるとともに、安定した保持時間と超低ベースラインが実現されます。さらに、単一標準によるキャリブレーションと組み合わせることで、水質試験ラボにとって非常に効率的で持続可能かつ信頼性の高い分析を行えます。

サンプルとサンプル前処理

サンプルシリーズには、2つの水道水サンプル、1つの人工水道水サンプル、1つの市販ミネラルウォーターサンプルが含まれていました。これらのサンプルは、米国EPA法300.1の要件に従って調製されました [1]。規定通り、標準液およびサンプルには50 mg/LのEDA(エチレンジアミン)を添加し、亜塩素酸塩を安定化させました。EDAはサンプルのpHをより塩基性に変化させることで、亜塩素酸塩の安定性を確保します。

回収率を評価するために、水サンプルに混合標準溶液(スパイク溶液、表1)を添加しました。また、マト

リックス適合性を評価するために、塩化物、硝酸塩、硫酸塩、炭酸塩(各20–500 mg/L)の高濃度を含む別の混合標準溶液を調製し、さらにグリコール酸、酢酸、ギ酸などの初期溶出有機酸(各1 mg/L)を添加しました。

イオンクロマトグラフィ(IC)システムのキャリブレーションには、単一標準溶液(表1)を調製し、**Metrohm Intelligent Partial-Loop Injection Technique(MiPT)**を用いて4–200 µLの可変量を注入しました。

表1. 標準溶液とスパイク溶液の比較。

分析対象物	標準溶液 1 (µg/L)	スパイク溶液 (µg/L)
フッ化物 (Fluoride)	100	100
亜塩素酸塩 (Chlorite)	10	5
臭素酸塩 (Bromate)	10	5
塩化物 (Chloride)	10,000	10,000
亜硝酸塩 (Nitrite)	20	20
臭化物 (Bromide)	20	20
塩素酸塩 (Chlorate)	10	5
硝酸塩 (Nitrate)	10,000	10,000
ジクロロ酢酸 (Dichloroacetate)	1,000	1,000
硫酸塩 (Sulfate)	10,000	10,000
リン酸塩 (Phosphate)	100	not spiked

実験

サンプルおよび標準溶液は、948 Continuous IC Module, CEP と MiPT セットアップ を備えたイオンクロマトグラフィ(IC)システムに直接注入されました(図1)。

システムのキャリブレーションには MiPT(Metrohm Intelligent Partial-Loop Injection Technique) を用いた自動手法を採用しました。単一標準溶液(表1)から異なる体積(4–200 μL)を注入することで、高精度なキャリブレーションシリーズが作成されました(フッ化物、リン酸塩: 8–400 $\mu\text{g/L}$ 、亜塩素酸塩、臭素酸塩、塩素酸塩: 0.8–40 $\mu\text{g/L}$ 、塩化物、硝酸塩、硫酸塩: 0.8–40 mg/L 、亜硝酸塩、臭化物: 1.6–80 $\mu\text{g/L}$ 、ジクロロ酢酸(DCAA): 0.08–4 mg/L)。

試料は一律で50 μL を導入し、それぞれ4回ずつ測定を行いました。結果は測定の回収率を示しています。

分析対象物の溶離は、水酸化物系溶離液のグラジエント(18–80 mmol/L KOH、濃縮液:4 mol/L 水酸化カリウム溶液(Supelco, Merck)、図2)を用い、溶離液自動生成装置 948 Continuous IC Module, CEP を使用して 45 ° C で 高容量の Metrosep A Supp 21上で行われます。

溶離液自動生成装置 948 Continuous IC Module, CEP による **オンデマンド溶離液生成** は、水の電気分解に基づいています。定義された電流(ファラデー電流)を流すことで、948 Continuous IC Module の Eluent Production Cartridge (EPC A) 内の白金電極で **水酸化物イオン(OH^-)** が超純水から生成されます。

対応する **カリウムイオン(K^+)** は、水酸化カリウム濃縮液(市販または自己調製、4 mol/L 以上)からイオン選択膜を通過して供給されます。印加される電流は常に監視され、設定された **イソクラティック(isocratic)**または**グラジエント(gradient)** OH^- 濃度の精度、再現性、および正確性を最大限に保証します。

このシステムにより、**腐食性が強く取り扱いが難しい水酸化物系溶離液の手動調製が不要**となります。

また、**炭酸塩の吸着問題**も最小限に抑えられるため、保持時間の安定性が向上し、超低ベースラインで微量分析対象物の定量が可能になります。

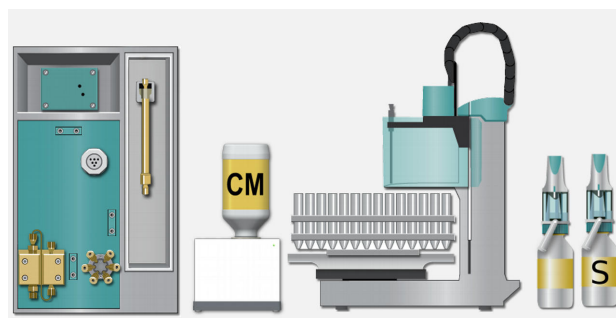


図1. 930 Compact IC Flex を用いた飲料水試験のセットアップ (自動KOH溶離液生成 (948 Continuous IC Module, CEP)、858 Professional Sample Processor、および Metrohm Intelligent Partial-Loop Injection Technique (MiPT) を使用)

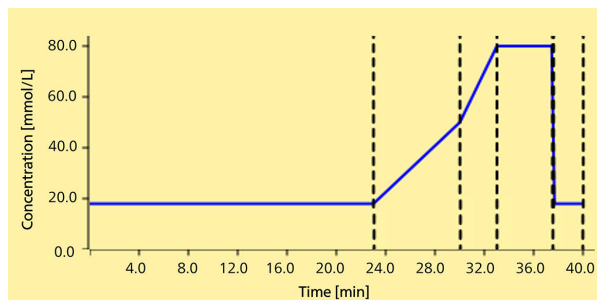


図2. 溶離液自動生成装置 948 Continuous IC Module, CEP によって維持された KOH のグラジエントプロフィール (濃縮液 : 4 mol/L 水酸化カリウム溶液、67109、Supelco, Merck)

表2. 米国EPA 300.1 AおよびBに基づく一般的な陰イオンおよび消毒副生成物(DBPs)の分析におけるクロマトグラフィの測定条件

グラジエント (948 Continuous IC Module, CEP)	18–80 mmol/L KOH (図2)
カラム/ガードカラム	Metrosep A Supp 21 - 250/4.0 Metrosep A Supp 21 Guard/4.0
溶離液流量	0.80 mL/min
カラム温度	45 ° C
測定時間	40 min
サンプル注入量	4–200 µL (MiPT) 50 µL for samples
サプレッサ	連続サプレッション
MSM	MSM-HC Rotor A, Hydroxide
MSM ステップ間隔	10 min
ドジーノ再生容量	10 mL (200 mmol/L 硫酸)
検出器	電気伝導度検出器

伝導率の信号は、サプレッサ通過後に記録されます (IC伝導度検出器MB)。したがって、水酸化物条件では、最良のシステム性能を実現するために設計され

た MSM-HC Rotor A, Hydroxide(水酸化物溶離液専用大容量メトロームサプレッサモジュール)が使用されます。

結果

対象物質の分析は、40分以内で行われました(図3)。米国EPA法300.1のパートAおよびBの分析は、単一のIC法で統合され、サンプルは共通で注入量 50µlで分析されました。

米国EPA法300.1の標準文書にはピーク間の分解能に関する明確な記載はありませんが、分解能は分析全体を通してモニタリングしました。比較のために、ISO 10304-1およびISO 10304-4では、適切な定量のために最低1.3の分解能が必要とされています。したがって、臭化物と塩素酸塩、亜塩素酸塩と臭素酸塩の分解能が最も重要です。95個のサンプルと標準試料を含む測定シリーズ(図3に示されたミネラル

ウォーターを含む)の測定した結果、臭化物と塩素酸塩の分解能は平均で2.1、亜塩素酸塩と臭素酸塩の平均分解能は1.9であり、ISO規格の要求を大きく上回っていました。

分析した水サンプルには、塩化物(8.2–10.9 mg/L)、硫酸塩(4.8–13.9 mg/L)、硝酸塩(3.8–9.6 mg/L)の高濃度(mg/L範囲)が含まれていました。フッ化物(57–72 µg/L)、臭化物(8–9 µg/L)、塩素酸塩(ミネラルウォーター、3 µg/L)は微量で検出されましたが、亜塩素酸塩、臭素酸塩、リン酸塩、DCAAはサンプルに含まれていませんでした。

繰り返し分析の相対標準偏差(RSD)は2.5%未満であ

り(例外として亜塩素酸塩と臭素酸塩は5%未満)、添加回収率は89–102%であり、標準の品質基準に収まり、IC法の再現性、精度、および堅牢性が強調さ

れました。

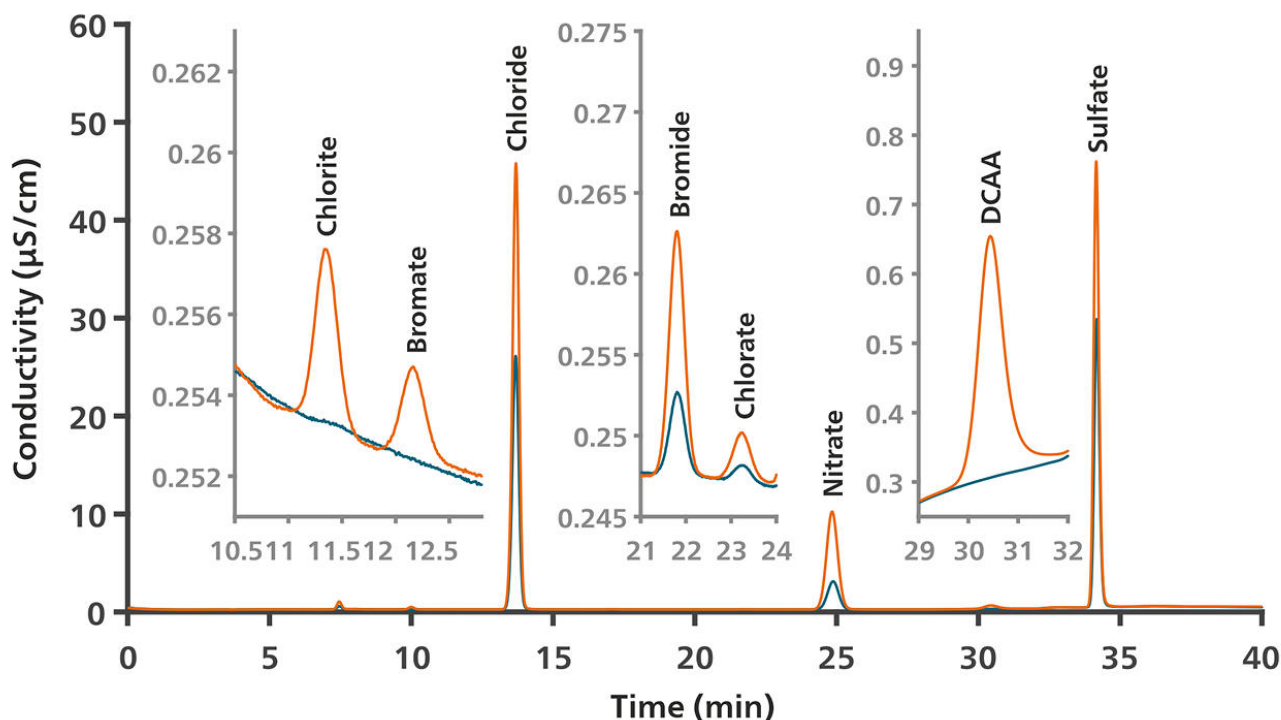


図3. 米国EPA法300.1のパートAおよびBに従って分析したミネラルウォーターサンプルのクロマトグラム [1]。青い線は元の水サンプルに対応しており（フッ化物72 µg/L、保持時間7.6分；亜塩素酸塩、臭素酸塩、リン酸塩、DCAAは0 µg/L；塩化物10.9 mg/L；臭化物9 µg/L；塩素酸塩3 µg/L；硝酸塩3.8 mg/L；硫酸塩13.9 mg/L）。オレンジ色の線は、混合スパイク溶液（表1）で添加されたミネラルウォーターサンプルに対応しています。分析対象物のグラジエント溶出（18–80 mmol/L KOH）は、サブプレッサ通過前に、高容量のMetrosep A Supp 21カラム（注入量 50 µL）で実施されました。

飲料水の品質分析ではマトリックス適合性が常に問題となるため、いくつかのマトリックス成分(例えば、図4に示す塩化物)の影響をテストして分離品質を確認しました。高濃度の塩化物は通常、臭素酸塩や亜硝酸塩のピークに影響を与え、正確な解析を妨げます。しかし、塩化物が最大500 mg/Lの濃度まで存在する場合、臭素酸塩と亜硝酸塩のピークは塩化物と十分に分離され(分解能 >3)、正確な定量が可能です。

硝酸塩(塩素酸塩に影響を与える)は最大200 mg/Lまで、硫酸塩(DCAAに影響を与える)は最大500 mg/Lまで存在しても、影響はありませんでした。早期溶出する有機酸(例えば、グリコール酸、ギ酸、酢酸)による影響が発生する可能性もあります。テストの結果、グリコール酸(フッ化物に最も近い溶出する有機酸)が存在しても、これらの二つのイオン間で同時に溶出することはなく、適切な分解能(2.1)が得られました。

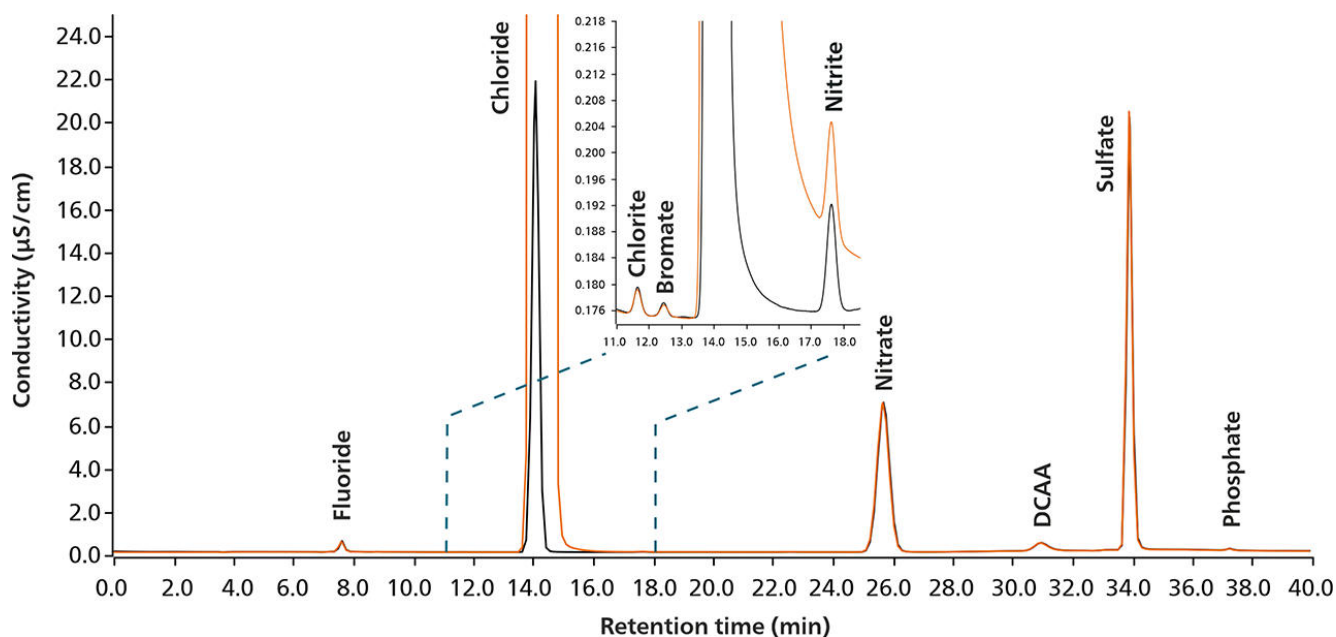


図4. 混合標準（表1、スパイク溶液、黒）に300 mg/Lの塩化物を加えたクロマトグラムオーバーレイ（オレンジ）。分析対象物のグラジエント溶出（18–80 mmol/L KOH）は、サプレッサ通過前に、高容量のMetrosep A Supp 21カラム（注入量 50 µL）を使用して実施されました。高塩化物含量において最も影響を受けたイオンの回収率は、亜硝酸塩で98%、臭素酸塩で97%でした。

結論

このアプリケーションでは、イオンクロマトグラフィを使用して、高濃度の無機アニオン(例:塩化物、硝酸塩、硫酸塩)と、低濃度の消毒副生成物(DBPs、すなわち、臭素酸塩、亜塩素酸塩、過塩素酸塩)および亜硝酸塩、臭化物を同時に溶出することはなく分析で分離・測定することに焦点を当てています。広範囲な濃度範囲での正確な測定には、高い直線性を持つ検出器が必要であり、例えばIC伝導度検出器MB(直線性範囲:0~15,000 µS/cm)、適切なピーク分離のための高容量カラム(Metrosep A Supp 21)、および最小の検出限界を達成するために優れたS/N比を持つ低いベースラインが必要です。

溶離液自動生成装置 948 Continuous IC module CEPは、水酸化物溶離液(MSM-HC Rotor A, Hydroxide)用に設計されたサプレッサと組み合わせることで、高純度溶離液、低いベースライン、最良のS/N比が得られます。高純度濃縮液(4mol/L 水酸

化カリウム溶液、Supelco、Merck)から、ほとんど試薬を使用しない水酸化物溶離液の自動生成と、簡単で直感的な勾配生成により、手動の工程とそれに伴う人為的誤差がなくなります。これにより安定した溶離液が生成され、安定した保持時間が得られます。この方法は、どのラボにとっても持続可能でコスト効率の良い解決策になります。

水酸化物溶離液用に設計されたMetrosep A Supp 21カラムは、U.S. EPA Method 300.1 Part AおよびB、ならびにISO 10304-1およびISO 10304-4で要求されるすべてのアニオンの高分解能をになります。これらの規格は元々、高濃度の基準アニオンと微量アニオンを正確に測定するために2つの異なる方法を用いることを想定していました。実際、多くの方法は適切な分解能と十分な感度を欠いており、2つの異なる方法を必要とするため、サンプルの分析処理速度が大幅に低下します。

メトロームは、Metrosep A Supp 21 - 250/4.0分
離カラムを使用し、自動高純度水酸化物溶離液生成
と連続サプレッション後の電気伝導度検出器、自動
インラインキャリブレーションを組み合わせること
で、EPA 300.1の2つの要素の品質を損なうことなく

統合する非常に包括的な方法を提供しています。
この効率的なシステム構成により、水質検査機関等
は定期的な飲料水基準を満たすことができ、全体的
な作業効率も向上します。つまり、このシステムは
信頼性の高い効率的な分析手法になります。

参考文献

1. U.S. EPA. U.S. EPA Method 300.1:
Determination of Inorganic Anions in
Drinking Water by Ion Chromatography,
Revision 1.0, 1997.
2. Boorman, G. A.; Dellarco, V.; Dunnick, J. K.;
et al. Drinking Water Disinfection
Byproducts: Review and Approach to
Toxicity Evaluation. *Environmental Health
Perspectives* **1999**, *107*, 207–217.
[DOI:10.2307/3434484](https://doi.org/10.2307/3434484)
3. Jackson, P. E. Ion Chromatography in
Environmental Analysis. In *Encyclopedia of
Analytical Chemistry*; Meyers, R. A., Ed.;
Wiley, 2000.
[DOI:10.1002/9780470027318.a0835](https://doi.org/10.1002/9780470027318.a0835)
4. ISO. ISO 10304-4:2022 - Water Quality —
Determination of Dissolved Anions by
Liquid Chromatography of Ions — Part 4:
Determination of Chlorate, Chloride and
Chlorite in Water with Low
Contamination, 2022.
5. ISO. ISO 10304-1:2007 - Water Quality —
Determination of Dissolved Anions by
Liquid Chromatography of Ions — Part 1:
Determination of Bromide, Chloride,
Fluoride, Nitrate, Nitrite, Phosphate and
Sulfate, 2007.

CONTACT

メトロームジャパン株式会
社
143-0006 東京都大田区平
和島6-1-1
null 東京流通センター アネ
ックス9階

metrohm.jp@metrohm.jp

装置構成



930 Compact IC Flex Oven/SeS/PP

930 コンパクト IC Flex Oven/SeS/PP はカラムオープン、連続サプレッション、サプレッサー再生のためのペリスタリックポンプを備えたインテリジェントコンパクトIC装置です。この装置は任意の分離メソッドおよび検出メソッドによって使用することができます。

典型的な使用領域:

- 連続サプレッションおよび電気伝導度検出器による陰イオンの測定



Metrosep A Supp 21 - 250/4.0

The Metrosep A Supp 21 columns are designed for operation with hydroxide-based eluents and provide excellent separating efficiency, coupled with a very high capacity. The small particles (4.6 μm) based on hydrophilized polystyrene/divinylbenzene guarantee sharp peaks. The stationary phase exhibits high stability with respect to temperature, pressure, and pH value, and is therefore suitable for extreme working conditions. The longer Metrosep A Supp 21 - 250/4.0 column version was specially developed for the determination of oxohalides (chlorite, bromate, chlorate), standard anions (fluoride, chloride, nitrite, bromide, nitrate, sulfate, and phosphate), and DCAA (dichloroacetate). With its separating efficiency, it exceeds the requirements of the US EPA method 300.1 A+B and of the DIN EN ISO 10304-1&4 standard. The high column capacity enables the quantification of anions and oxohalides in low $\mu\text{g/L}$ concentrations with excellent reproducibility, even in the most challenging sample matrices. With the wide range of elution conditions available, it is also possible to determine other anionic components, e.g. low-molecular-weight organic acids.



IC: MiPT

パーシャルルーピングインジェクションのドジーノ設置のための付属品セット。