

令和元年6月12日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2018

課題番号：26288065

研究課題名(和文) 反応エレクトロスプレーイオン化質量分析法の提案と無機オキソ酸分析への応用

研究課題名(英文) Development of a novel method for the determination of inorganic oxyanions by reaction electrospray ionization mass spectrometry

研究代表者

角田 欣一 (Tsunoda, Kin-ichi)

群馬大学・大学院理工学府・教授

研究者番号：30175468

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：エレクトロスプレーイオン化質量分析法のインターフェース部で起こるカルボン酸と多くの無機オキソ酸イオンとの脱水縮合反応の生成物が、強いMass信号を与えることを見出した。本研究では、この新しい現象を利用する「反応ESIMS」を提案するとともに、それを利用する金属元素および半金属元素の無機オキソ酸の新たな定量法を開発した。さらに、各種クロマトグラフィー、電気透析に基づく脱塩装置などの前処理法とのシステム化を計り実用的な無機オキソ酸分析法を実現した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エレクトロスプレーイオン化質量分析法(ESIMS)は、液体クロマトグラフィー(LC)と結合したLC/MSに応用され、生化学分析や有機微量分析において、現在、大変有力な分析方法となっているが、無機イオンの微量定量分析への応用研究は、極めて限られていた。申請者らのこれまでの研究および本研究により、ESIMSによる金属イオン、ハロゲン化物イオン、そしてオキソ酸イオンなど、ほとんどの無機イオンの実用的な定量法が開発された。これらの研究は、今後のESIMSの本分野への本格的応用へ道を開く研究と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Novel methods for the determination of inorganic oxyanions by electrospray ionization mass spectrometry (ESIMS) have been developed using dehydration reactions between oxyanions and carboxylic acids at the ES interface. Twelve oxyanions (VO₃⁻, CrO₄²⁻, MoO₄²⁻, WO₄²⁻, BO₃³⁻, SiO₃²⁻, SiO₄⁴⁻, AsO₄³⁻, AsO₂⁻, SeO₄²⁻, SeO₃²⁻ and NO₂⁻), out of 16 tested, reacted with four aminopolycarboxylic acids, i.e., IDA, NTA, CyDTA and TTHA, at the ES interface to produce the dehydration products which gave intense mass ion responses, sufficient for trace analysis. Among them, trace determinations of Cr(VI) and silica in water samples, and AsO₄³⁻ and AsO₂⁻ in Hijiki were achieved after on-line ion chromatography (IC). Moreover, a desalter based on electrodialysis was developed and was applied to the on-line desalter/ESIMS system for the determination of SiO₄⁴⁻ and BO₃³⁻ in natural water samples.

研究分野：分析化学

キーワード：エレクトロスプレーイオン化質量分析法 オキソ酸イオン イオンクロマトグラフィー 電気透析 脱塩装置

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

金属イオン(陽イオン)やハロゲン化物イオン・オキソ酸イオン(陰イオン)などの無機イオンの微量定量は、古くから学術および社会において重要な研究課題であり、現在もその状況は変わっていない。現在では、金属イオンに関しては ICP 質量分析法などの原子スペクトル分析法が、また、無機陰イオンの測定に関してはイオンクロマトグラフィー(IC)などが主流となっている。これらは優れた方法であるが、原子スペクトル分析法は、装置の経済性と安全性に問題があり、環境モニタリングなどへの応用が困難であるほか、元素の化学種別定量(スペシエーション分析)が不可能であるという欠点がある。一方、IC は、分析法自体の問題として、感度、選択性、さらに分析のスループットなどに問題点が指摘されている。

エレクトロスプレーイオン化質量分析法(ESIMS)は、液体クロマトグラフィー(LC)と結合した LC/MS に応用され、生化学分析や有機微量分析において、現在、大変有力な分析方法となっている。しかし、無機イオンの微量定量分析への応用研究は、1990 年代後半にカナダの有名な分光化学者の Horlick 教授のグループを中心になされたが、実用レベルには達しなかった。この主たる原因として共存イオンの大きな干渉効果が挙げられる。

申請者らは、ESIMS を金属元素のスペシエーション分析に利用することを目的として、ESIMS による金属錯体の測定に関する研究を行ってきた。その過程で ESIMS による金属イオンの全量定量も可能と考え、検討を行った結果、金属イオンとアミノポリカルボン酸(APC)の安定な錯体を生成させ、それをネガティブイオンとして検出する、脱塩のための簡単な前処理システム(現在はサイズ排除カラム)と ESIMS と結合する、内標準法を適用する、という 3 つの基本アイデアにより、共存イオンの干渉の問題を解決し、ESIMS 装置を用いる実用的な金属イオンの定量法を提案した。さらに、ハロゲン化物イオンに関しては、金属イオンとの三元錯体生成を利用して、汎用法(イオン電極法や IC)よりも二桁高感度な方法(世界最高感度)を提案している(Hotta et al, *Anal. Chem.*, 2009)。申請者らは、これらの研究成果をベースにして、日本発の新たな微量無機イオンの分析体系を提案すべく、科研費補助金(基盤研究 B (H23~H25))をつけ、さらに研究を行ってきた。その結果、オンライン試料前処理法として迅速かつ高効率な脱塩システムの開発、高効率な共存 3 価金属イオン除去システムの開発、金属イオンとの 3 元錯体生成を利用する CN⁻、SCN⁻の高感度定量法の開発などの成果を挙げている。

2. 研究の目的

申請者らは、オキソ酸の測定法を開発すべく、クロム酸イオンを例にとり、オキソ酸(この場合 HCrO₄⁻)を直接測定することにより、その微量定量法の開発に成功した。この研究過程で、クロム酸イオンとアミノポリカルボン酸類の一種である NTA が、エレクトロスプレー(ES)インターフェース部で脱水縮合反応を起こし、その脱水生成物がネガティブイオンモードにおいて、強い信号を与えることを見出した。さらに、検討した結果、ほとんどすべての無機オキソ酸とカルボン酸類の化合物が脱水縮合反応を起こし、それら生成物は強い Mass 信号を与えることを見出した。本申請では、この新しい現象を利用する「反応 ESIMS」を提案するとともに、それを利用する無機オキソ酸の、汎用法よりも高感度(検出限界 subnM)、高選択的、ハイスループットな微量定量法の確立を目指す。そのために、装置、試薬の最適化、反応機構の解明を行うとともに、電解セル、各種クロマトグラフィー、脱塩装置などの前処理法とのシステム化を計り実用的な無機オキソ酸分析法を実現する。

3. 研究の方法

これまでの予備検討を基に、以下の 4 テーマについて検討した。

- ES インターフェースにおける様々なオキソ酸とカルボン酸との脱水反応の最適化
- 最適なカルボン酸の探索
- 電解セル法の開発と IC や脱塩装置とのシステム化による実用分析法の確立
- 脱水反応の生体関連物質や有機環境汚染物質分析への応用、について検討を行う。

4. 研究成果

1) と に関する成果

表 1 に、検討したオキソ酸イオンと種々のカルボン酸(予備検討により、他の有機酸に比べ、アミノポリカルボン酸(APC)が高効率で脱水生成物を生成することが判明したため、主に APC を中心に検討を行った)とのインターフェースにおける脱水反応の結果を示す。表中の LOD は、脱水生成物を ESIMS で測定したときの、それぞれのオキソ酸イオンについての検出限界(μM)を示す。金属元素と半金属元素のオキソ酸はすべて非常に強い Mass 信号を与える脱水生成物を与えた。一方、非金属元素のオキソ酸イオンは、亜硝酸イオンを除いて、脱水生成物を与えなかった。また、検討した APC のなかではイミノ酢酸(IDA)が、多くのオキソ酸で最も強い信号を与えた。こうした検討をもとに、金属元素からはクロム酸イオン(CrO₄²⁻)、半金属元素からはホウ酸イオン(BO₃³⁻)、ケイ酸イオン(メタケイ酸イオン(SiO₃²⁻)とオルトケイ酸イオン(SiO₄⁴⁻)、ヒ酸イオン(AsO₄²⁻)と亜ヒ酸イオン(AsO₂⁻)、さらに非金属元素からは亜硝酸イオン(NO₂⁻)を選び、の検討を行った。

表1 . ESIMS のインターフェースにおける様々なオキソ酸イオンと APC による脱水反応

		Direct ^b	IDA	NTA	CyDTA	TTHA
VO ₃ ⁻	LOD (μM)	1.0	0.84	2.9	0.72	0.37
	m/z (-H ₂ O)	99(VO ₃ ⁻)	214	272	427	575
CrO ₄ ⁻	LOD (μM)	0.013 ^b	0.84	0.016	0.16	0.67
	m/z (-H ₂ O)	117(HCrO ₄ ⁻)	232	290	445	593
MoO ₄ ²⁻	LOD (μM)	3.9	0.31	n.d. ^c	n.d.	n.d.
	m/z (-H ₂ O)	163(HMoO ₄ ⁻)	278	336	491	639
	LOD (μM)		0.31	0.060	1.23	2.3
	m/z (-2H ₂ O)		260	318	473	621
WO ₄ ²⁻	LOD (μM)	1.0	0.88	n.d.	n.d.	n.d.
	m/z (-H ₂ O)	249(HWO ₄ ⁻)	364	422	577	725
	LOD (μM)		1.6	5.4	1.9	1.6
	m/z (-2H ₂ O)		346	404	559	707
BO ₃ ³⁻	LOD (μM)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.69
	m/z (-2H ₂ O)	61(H ₂ BO ₃ ⁻)	158	216	371	519
SiO ₃ ²⁻	LOD (μM)	n.d.	0.014	3.4	1.1	3.7
	m/z (-H ₂ O)	77(HSiO ₃ ⁻)	192	250	405	553
SiO ₄ ⁴⁻	LOD (μM)	n.d.	n.d.	n.d.	10	2.1
	m/z (-H ₂ O)	95(H ₃ SiO ₄ ⁻)	210	268	423	571
	LOD (μM)		0.011	n.d.	9.0	26
	m/z (-2H ₂ O)		192	250	405	553
AsO ₄ ³⁻	LOD (μM)	0.95	n.d.	n.d.	1.5	1.0
	m/z (-H ₂ O)	141(H ₂ AsO ₄ ⁻)	256	314	469	617
	LOD (μM)		0.035	n.d.	n.d.	n.d.
	m/z (-2H ₂ O)		238	296	451	599
AsO ₂ ⁻	LOD (μM)		0.11	-	-	-
	m/z (-3H ₂ O)		353 ^d	-	-	-
	LOD (μM)	n.d.	0.034	0.27	n.d.	n.d.
	m/z (-H ₂ O)	107(AsO ₂ ⁻)	222	280	435	583
SeO ₄ ²⁻	LOD (μM)		0.00069			
	m/z (-2H ₂ O)		337 ^e			
SeO ₄ ²⁻	LOD (μM)	0.065	13	n.d.	n.d.	n.d.
	m/z (-H ₂ O)	145(HSeO ₄ ⁻)	260			
SeO ₃ ²⁻	LOD (μM)	1.2	0.16	n.d.	n.d.	n.d.
	m/z (-2H ₂ O)	129(HSeO ₃ ⁻)	226			
NO ₃ ⁻	LOD (μM)	113	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	m/z (-H ₂ O)	62(NO ₃ ⁻)	177	235	390	538
NO ₂ ⁻	LOD (μM)	n.d.	0.49	n.d.	n.d.	n.d.
	m/z (-H ₂ O)	46(NO ₂ ⁻)	161	219	374	522
PO ₄ ³⁻	LOD (μM)	1.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	m/z (-H ₂ O)	97(H ₂ PO ₄ ⁻)	212	270	425	573
SO ₄ ²⁻	LOD (μM)	0.37	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	m/z (-H ₂ O)	97(HSO ₄ ⁻)	212	270	425	573
ClO ₄ ⁻	LOD (μM)	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	m/z (-H ₂ O)	99(ClO ₄ ⁻)	214	272	427	575

LOD は、脱水生成物を ESIMS で測定したときの、それぞれのオキソ酸イオンについての検出限界 (μM) を示す。

Direct のカラムはオキソ酸イオンを直接 ESIMS で測定したときの LOD を示す。

2) に関する成果

i) クロム酸イオン (CrO₄²⁻)

図1に CrO₄²⁻測定用に開発したポストカラムイオンクロマトグラフィー (IC) システムを示す。分離カラムには陰イオン交換カラム (AG4A-SC Dionex)、溶離液には 35 mM NH₄HCO₃ 水溶液を用いた。また、ポストカラム溶液には 500 μM NTA 溶液を用い、脱水生成物 (m/z 290) の Mass 信号を SIM で測定した。その結果、LOD として 17 nM が得られた。一方、直接クロム酸イオン (測定イオン HCrO₄⁻) を測定した時の LOD は 62 nM であった。本法を河川水の分析に適用したところ、河川中のクロム酸イオンそのものは測定できなかったが、回収率はほぼ 100 % となった。

ii) ケイ酸イオン (オルトケイ酸イオン (SiO_4^{4-}))

SO_3^{2-} と SO_4^{4-} については、IDA が最も強い Mass 信号を与える脱水生成物 ($-2\text{H}_2\text{O}$) を与えた。また、これらの脱水生成物は同じ m/z に信号を与えたが (m/z 192)、感度はすこし異なった。本研究では、天然水中の主成分とされている SiO_4^{4-} について主に検討を行った。ケイ酸は弱酸で、天然水中ではほとんど酸解離しないため、ESIMS によるケイ酸の直接測定は不可能であり、本法が特に有効なおキシ酸である。ケイ酸については IC と電気透析に基づく脱塩システムを用いたオンライン測定法を開発した。

まず、IC 法に関しては、基本的に図 1 と同じ装置を用いた。分離カラムには弱酸性の陽イオン交換カラム (TSKgel Super IC-A/C)、溶離液には純水を用いた。また、ポストカラム溶液には 100 μM IDA 水メタノール混合溶液 (混合比 1 : 4 (v : v)) を用いた。その結果、LOD は 0.17 μM であり、本システムを用いて河川水中のシリカの定量が可能であった。

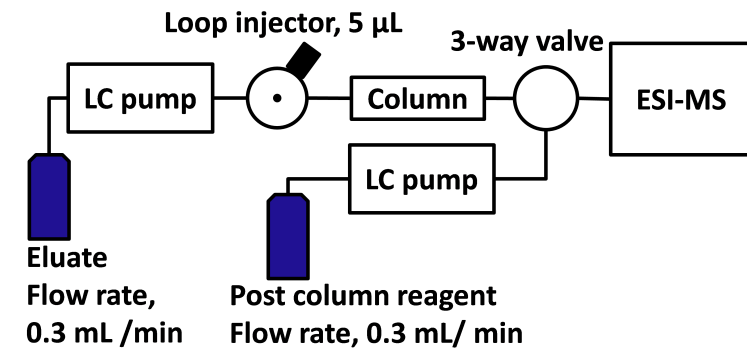


図 1 . ポストカラムイオンクロマトグラフィー - ESIMS 測定システム

一方、図 2 に作製した脱塩装置を示す。本装置により、40V の印加で、100 mM NaCl 水溶液まで、ほぼ完全な脱塩が可能であった。本装置を ESIMS とオンラインで結合した測定装置を作製し、天然水の分析に応用したところ、海水、汽水、河川水中のシリカの定量が可能であった。また、本装置では、ホウ酸イオン (BO_3^{3-}) の定量も可能であった。

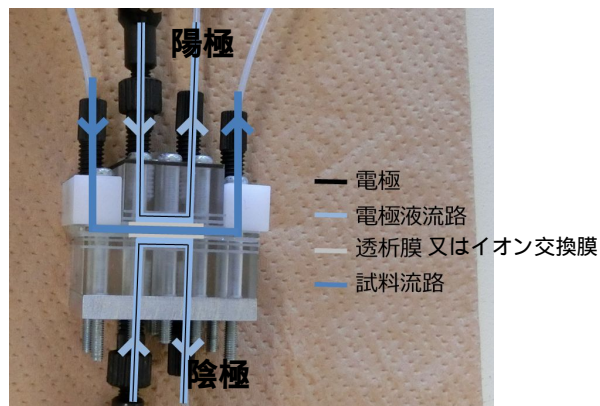


図 2 脱塩セル内の流路の模式図 (流路長 1 cm)

iii) ヒ酸イオン (AsO_4^{2-}) と亜ヒ酸イオン (AsO_2^-)

AsO_4^{2-} と AsO_2^- に関しては、IDA が最も強い Mass 信号を与える脱水生成物を与えた。 AsO_4^{2-} は IDA との 1 : 1 生成物から水分子が 2 つ取れた化学種 (m/z 238), AsO_2^- は 1 : 2 生成物から水が 2 つ取れた化学種 (m/z 337) が最も強い信号を与えた。特に AsO_2^- に関しては高感度な測定が可能であった (表 1 参照)。これらのおキシ酸に関しては、図 1 と同様の IC を利用した測定システムを作製した。分離カラムには陽イオン交換カラム (TSKgel Super IC-AZ)、また、溶離液には超純水を用いた。ポストカラム溶液には 100 μM IDA 水メタノール混合溶液 (混合比 1 : 4 (v : v)) を用いた。本システムをヒジキ中のヒ酸の定量に応用したところ、回収率ほぼ 100% が得られ、また、測定値は ICP-AES ともよい一致を示した。

iv) 無機窒素化合物 (NO_2^- 、 NO_3^- 、 NH_3)

表 1 に示す通り、亜硝酸イオンは IDA と脱水生成物を与えると考えた。しかし、その後の検討により、それは、溶液中で進行する IDA を第二級アミンとする亜硝酸イオンとのニトロソアミン生成反応と判明した。この反応を用い、新たな亜硝酸イオンの定量法を開発したところ、LOD として 84 nM が得られ、河川水の分析に適用可能であった。また、硝酸イオンに対しては硝酸イオンと 4-(2-Pyridylazo) resorcinol (PAR)、 Cu^{2+} の三元錯体化反応を利用する定量法を新たに開発し、LOD として 0.94 μM が得られた。さらに、アンモニアに対しては、アンモニアと o-フタルアルデヒド (OPA)、N-アセチルシステイン (NAC) のイソインドール化反応が、ESI-MS による定量のための誘導体化法として有効であることを見出し、LOD として 20 nM を得た。

3) に関する成果

クエン酸、リンゴ酸などの有機酸を対象に、おキシ酸として CrO_4^{2-} を選択し、脱水生成物測定による有機酸の定量を試みた。しかし、分析に応用できるほどの感度が得られなかったため、この予備実験で検討を打ち切った。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

Hirochika Kojima, Shota Kurihara, Yoshito Watanabe, Koki Iwamaru, Kiichi Sato, Kin-ichi Tsunoda and Hiroki Hotta, A novel method for determination of inorganic oxyanions by electrospray ionization mass spectrometry using dehydration reactions, *J. Mass Spectrom.*, **2016**, *51*, 123–131 (<https://doi.org/10.1002/jms.3731>). (査読あり)

Hiroki Hotta, Kin-ichi Tsunoda: Electrospray Ionization Mass Spectrometry for the Quantification of Inorganic Cations and Anions, *Anal. Sci.*, **2015**, *31*, 7–14 (<https://doi.org/10.2116/analsci.31.7>). (査読あり)

[学会発表] (計 17 件)

Kin-ichi Tsunoda, Makoto Hayashi, Reiko Ishihara, Kiichi Sato (Keynote), Analysis for traces of inorganic cations and anions by ESI-MS, 2018 CJK Symposium on Analytical Chemistry, 2018.

林 慎・佐藤 記一・角田 欣一, ESI-MS による亜硝酸イオン、アンモニアの定量のための誘導体化法の検討, 日本分析化学会第 67 年会, 2018.

石原れい子・佐藤記一・角田欣一・堀田弘樹, ESI-MS によるケイ酸定量のための前処理用電気透析装置の開発, 第 54 回フローインジェクション分析講演会, 2017.

石原 れい子・佐藤 記一・角田 欣一・堀田 弘樹, エレクトロスプレーイオン化質量分析法のための前処理用電気透析装置の開発およびケイ酸定量への応用, 日本分析化学会第 66 年会, 2017 .

林 慎・佐藤 記一・角田 欣一, ニトロソアミン生成反応を利用する ESI-MS による亜硝酸イオンの定量法の開発, 日本分析化学会第 66 年会, 2017.

石原れい子・佐藤記一・角田欣一・堀田弘樹, エレクトロスプレーイオン化質量分析法のための前処理用電気透析装置の開発とホウ酸定量への応用, 6th CSJ 化学フェスタ, 2016.

岩丸昂輝・佐藤記一・角田欣一, 脱水反応を利用するエレクトロスプレーイオン化質量分析法によるヒ素化合物の定量, 日本分析化学会第 65 年会, 2016 .

Reiko Ishihara, Kiichi Sato, Kin-ichi Tsunoda, Hiroki Hotta, Development of Electrode for On-line Sample Pretreatment of Electrospray Ionization Mass Spectrometry and Its Application to Quantification of Boric Acid, RSC Tokyo International Conference 2016, 2016.

岩丸昂輝・小島弘誓・佐藤記一・角田欣一, ESI-MS のイオン化部における脱水反応を利用するヒ酸, 亜ヒ酸の定量法の開発, 第 52 回フローインジェクション分析講演会, 2015.

岩丸昂輝・小島弘誓・佐藤記一・角田欣一, 脱水反応を利用するエレクトロスプレーイオン化質量分析法によるヒ素のスペシエーション分析, 5th CSJ 化学フェスタ, 2015.

角田欣一 (依頼講演), 無機イオンの環境分析におけるエレクトロスプレーイオン化質量分析法の可能性, 日本分析化学会第 64 年会, 2015.

Koki Iwamaru, Hirochika Kojima, Kiichi Sato, Kin-ichi Tsunoda, Determination of Arsenite and Arsenate by Electrospray Ionization Mass Spectrometry Using Dehydration Reactions at the Interface, The 8th Asia Pacific Symposium on Ion Analysis, 2015 .

Kin-ichi Tsunoda, Hirochika Kojima, Koki Iwamaru, Shota Kurihara, Yoshito Watanabe, Kiichi Sato, "Electrospray ionization mass spectrometry using dehydration reaction at the interface as a new detection method of inorganic oxyanions", Flow Analysis XIII, 2015.

岩丸昂輝・小島弘誓・佐藤記一・角田欣一, 脱水反応を利用するエレクトロスプレーイオン化質量分析法によるヒ酸, 亜ヒ酸の定量, 第 75 回分析化学討論会, 2015.

Hirochika Kojima, Koki Iwamaru, Kiichi Sato, Kin-ichi Tsunoda, "Determination of silicic acids by electrospray ionization mass spectrometry", The 19th International Conference on Flow Injection Analysis and Related Techniques, 2014.

小島弘誓・佐藤記一・角田欣一, インターフェースにおける脱水反応を利用するエレクトロスプレーイオン化質量分析法によるケイ酸の定量法の開発, 日本分析化学会第 63 年会, 2014.

Kin-ichi Tsunoda, Hirochika Kojima, Shota Kurihara, Yoshito Watanabe, Koki Iwamaru, Kiichi Sato, (Keynote Lecture), "Development of the new determination method of oxyanions using electrospray ionization mass spectrometry", 2014 China-Japan-Korea Symposium on Analytical Chemistry, 2014.

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：堀田 弘樹

ローマ字氏名：Hotta Hiroki

所属研究機関名：神戸大学

部局名：海事学部

職名：准教授

研究者番号 (8 桁) : 80397603

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます