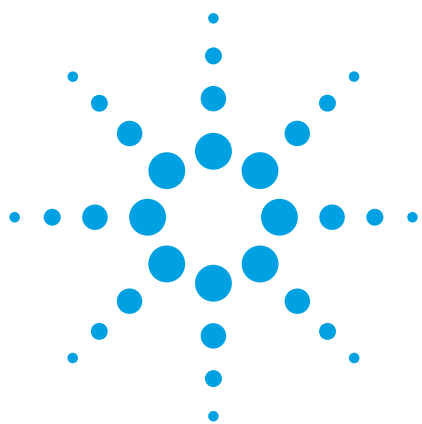




LC-ICP-MS を用いた、欧州安全性規格・玩具 EN71-3 分析に準拠するための玩具中の 3 価および 6 価クロムの分析

アプリケーションノート

材料

著者

酒井和広¹, Juane Song²,
Dong Yan² and XiangCheng Zeng²

¹Agilent Technologies, Japan

²Agilent Technologies China



はじめに

クロム (Cr) はめっきや製革、染料など工業プロセスにおいて幅広く用いられ、鋼や合金などの工業用品にも含まれています。Cr は様々な酸化状態を有しますが、通常は 3 価クロム Cr(III)、または 6 価クロム Cr(VI) の状態で存在します。Cr(III) は人体に必要な栄養素であるのに比べ、Cr(VI) は有害物質です。Cr(VI) はヒト発癌物質であることが知られており、Cr(VI) の最大含有量は厳しく規制されています。例えば、欧州連合 (EU) では、RoHS 指令により電子製品中の Cr(VI) の使用は禁止されています。

同様に、欧州玩具安全指令 (European Toy Safety Directive (2009/48/EC)) では、潜在的に危険で有害な物質を含む玩具の子供への暴露を最小限に抑えるよう規制しています。欧州安全性規格 (EN71) は、欧州指令 2009/48/EC および Part 3 (EN71-3) を支持



Agilent Technologies

し、幼児が玩具を噛んだり、口に入れたり、飲み込むことを想定して玩具材料を様々なカテゴリーに分類しています。EN71-3の最新の改訂は2012年に行われ、2013年7月20日に執行されました。それ以降欧州で売られる玩具は、この指令を順守しなければなりません。

玩具材料および玩具部品は以下の3つのカテゴリーに分類されます。カテゴリー I: 乾燥物、砕けやすいもの、粉末のようなものまたは柔軟なもの: カテゴリー II: 液体および粘着性のもの: カテゴリー III: コーティングされたものおよび削り落とされたもの EN71-3 は、17 元素 (アルミニウム、アンチモン、ヒ素、バリウム、ホウ素、カドミウム、クロム、コバルト、銅、鉛、マンガ、水銀、ニッケル、セレン、ストロンチウム、スズ (有機スズ化合物)、亜鉛) について移行限度を指定しています。Cr は、表 1 に示した通り、Cr(III) および Cr(VI) にて異なる移行限度を有します。カテゴリー II に分類されている玩具材料 (飲み込む恐れのある液体製品) は、Cr(VI) にて 5 ppb の下限値を順守しなければなりません。図 1 に示した通り、EN71-3 で定められたサンプル前処理法では 500 倍に希釈することになります。つまり、サンプル内の Cr(VI) は 10 ppt として測定されるため、本アプリ

ケーションは Cr 種を分析するにあたり高感度が必要です。本アプリケーションノートでは、Agilent 7700x ICP-MS と Agilent 1260 バイオイナート LC を組み合わせ、Cr の化学種を低濃度レベルで測定するメソッドをご紹介します。

実験手法

Agilent 7700x ICP-MS に Agilent 1260 バイオイナート LC を接続しました。7700 シリーズに搭載されているコリジョン・リアクションセル (CRC) にてヘリウム (He) ガスモードを使用し、Cr に干渉し得る $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}$ 、 $^{34}\text{S}^{18}\text{O}$ 、 $^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}$ 、 $^{35}\text{Cl}^{16}\text{OH}$ などの多原子干渉イオンを除去しました。He モードを用いると、Cr 種分析において低 DL を達成することができ、また、炭素、硫黄、塩化物とのピークとは独立して Cr のみのクロマトグラムを確認できます。2 つの Cr 種を効率的に測定するために、溶液中に $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ として存在する陽イオンの Cr(III) を、EDTA のキレート反応により陰イオン $[\text{Cr}^{3+}\text{-EDTA}]^{-1}$ に変換し、陰イオン交換カラムにて分離します。ICP-MS MassHunter (MH) ソフトウェアを用いて LC-ICP-MS のメソッドやシーケンスの設定を行いました。

表 1. 玩具材料のカテゴリーおよび Cr 種の移行限度

玩具材料	カテゴリー 1	カテゴリー 2	カテゴリー 3
塗料、ワニス、ラッカー、印刷インキ、ポリマー、発泡体とそれと同様のコーティング			√
ラミネートを含むが、その他の繊維製品を除く高分子と同様の材料 (繊維補強の有無の区別なし)			√
紙およびボール紙			√
繊維 (天然、合成の区別なし)			√
ガラス、セラミック、金属材料			√
他の材料 (原料着色の有無の区別なし)			
圧縮された塗料平板、玩具などに残留することを想定した微量物質または類似の材料	√		
モデリング粘土や石膏を含む柔軟なモデリング材料	√		
液体塗料、ワニス、ラッカー、玩具に使用される可能性のあるペンや、同様の材料で液体インクを含む液体塗料		√	
玩具材料の移行限度 (mg/kg)			
クロム (3 価)	37.5	9.4	460
クロム (6 価)	0.02	0.005	0.2

ICP-MS

Agilent 7700x ICP-MS に標準装備されているマイクロストネブライザを接続して分析を行いました。LC カラムの出口は直接 ICP-MS ネブライザに繋がりました。内部標準溶液 (ISTD) としてコバルト (Co) を用意し、オンライン ISTD キット (G3280-60590) を用いてネブライザに接続しました。各クロマトグラムに対して ISTD 補正を行い、シグナルドリフトの補正を行いました。ICP-MS MassHunter ソフトウェアの自動積分機能にてピークの積分を行いました。装置の設定条件を表 2 に示します。プラズマ条件は Cr が最大の感度かつ、He コリジョンモードにて CeO^+/Ce^+ が 0.5 % 以下となるよう最適化しました。イオンレンズの電圧は、ICP-MS MassHunter のオートチューニング機能を用いて最適化しました。

HPLC

より低い Cr の検出下限値を達成するために Agilent 1260 Infinity バイオイナート HPLC (G5611A バイオイナートクオタナリーポンプと G5667A バイオイナート高性能オートサンプラー) を用いま

した。バイオイナート HPLC は、サンプルと移動相に触れる部品を全て不活性素材に付け替え、タンパク質などのバイオサンプルの劣化を防止し、HPLC 由来の金属バックグラウンドを回避しました。バイオイナート LC は金属種の分析に適しており、低 DL を達成することができます。

陰イオン交換カラムの Agilent Bio WAX NP5 (5190-2488)、4.6 x 50 mm、5 μm 、PEEK ガードカラムを用いて、Cr 種の分離を常温にて行いました。ポリプロピレンのキャップ付きのガラスバイアル (5182-0540) を使用しました。使用前に、希釈した硝酸でバイアルを洗浄した後、超純水 (UPW) にて全体を洗い流しました。ゴムやプラスチック、微量有機残留物などもサンプルと接触すると Cr 種が減少します。表 2 に HPLC の動作パラメータを示します。

試薬

Cr(III) および Cr(VI) はそれぞれ関東化学株式会社より購入した $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ および K_2CrO_4 より調整しました。同仁化学研究所より購入した高純度 Na-EDTA を、溶解、希釈後アンモニアにて中和しました。半導体グレードの HCl とアンモニア水 (多摩化学工業、Tmapure AA-100) を用いました。

サンプル前処理

図 1 にサンプル前処理の手順を示します。手順は EN71-3 に順守しており、幼児が玩具材料を万が一飲み込んでしまった場合を想定しています。このメソッドは Cr 種の総量を定量するためのメソッドではありません。抽出した溶液は EDTA とアンモニア水にて安定化させます。アンモニア水を加え中和することにより、沈殿による損失や相互変換を数時間防ぎ、玩具材料から抽出した Cr 種を保存します。前処理後、溶液を $\text{pH} = 7 \pm 0.5$ に調整すれば、24 時間程度は両 Cr 種が維持されたことを確認しました。検量線用標準溶液も同様の手順で調整しました。

表 2. LC-ICP-MS オペレーションパラメータ

ICP-MS 条件	
RF 出力	1550 W
サンプリング深さ	8.0 mm
キャリアガス	1.10 L/min
メイクアップガス	0 L/min
オプションガス	0 L/min
セルガス	He 4.3 mL/min
オクタポールバイアス	-18 V
KED	+3 V
HPLC 条件	
移動相	アンモニア水にて $\text{pH} = 7$ に調整された 75 mM HNO_3
流速	0.8 mL/min
注入量	100 μL
取り込みパラメータ	
採取	時間分析 (TRA)
滞留時間	$m/z = 52$ では 1.0 秒、 $m/z = 59$ では 0.1 秒
分析時間	160 秒

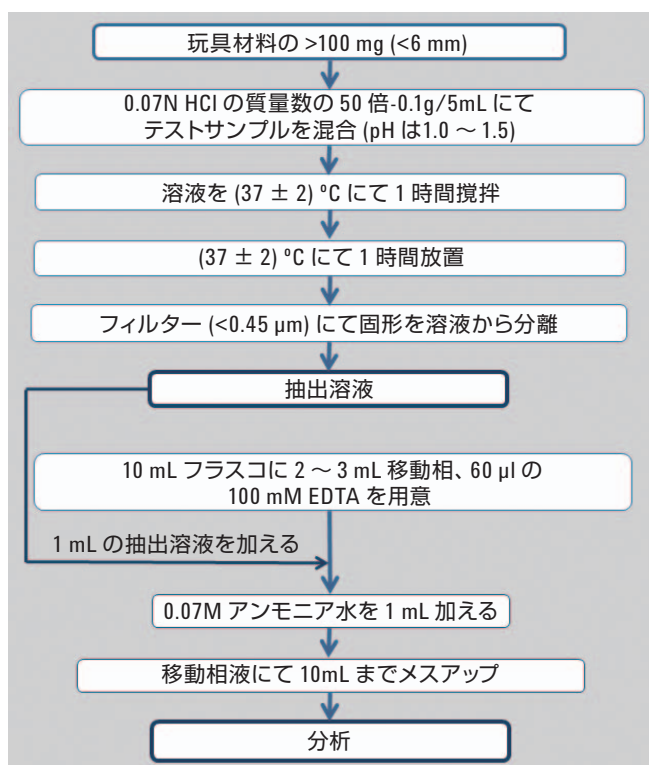


図 1. サンプル前処理の流れ (サンプルは 500 倍に希釈されている)

結果と考察

図 2 に、重ね書きされた検量線用標準溶液のクロマトグラムおよび Cr(VI) の検量線を示します。Cr(VI) 標準溶液は、Cr(III) より 10 倍高い濃度の 5 ppt、10 ppt、20 ppt、50 ppt および 100 ppt が用意されました。Cr(III) および Cr(VI) は、それぞれ 0.85、1.67 分で溶出しました。

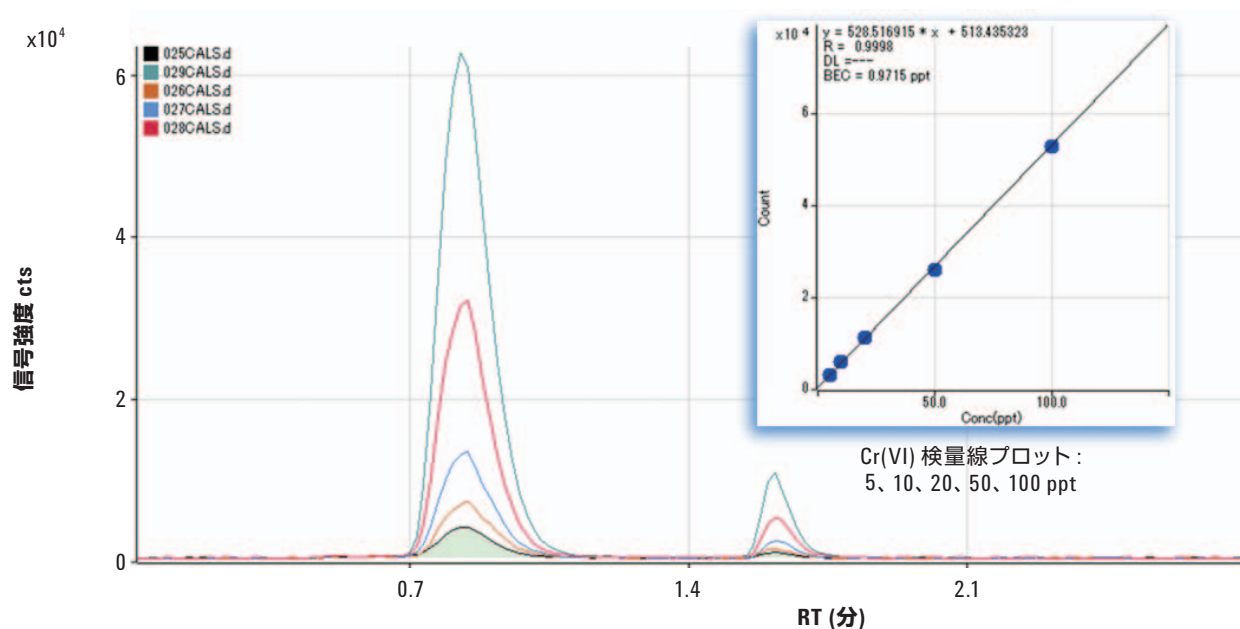


図 2. 重ね書きされた Cr(III) と Cr(VI) の標準試料クロマトグラムおよび Cr(VI) の検量線プロット

3種類の玩具材料分析の分析メソッドおよび分析結果を表3にまとめました。

表3. メソッドと分析のまとめ

			Cr(III)	Cr(VI)
リテンションタイム		分	0.95	1.67
DL	溶液中	ppt	3.1	2.0
	材料中	μg/kg	1.6	1.0
MDL	溶液中	ppt	8.6	2.1
	材料中	μg/kg	4.3	1.1
ウォッシュアウト			< 1/10000	< 1/10000
定量値	サンプル 1	μg/kg	78.6 ± 4.2	3.0 ± 0.7
	サンプル 2		15.1 ± 0.9	< D.L.
	サンプル 3		50.8 ± 1.3	< D.L.
添加回収	サンプル 1	%	98.0	111.2
	サンプル 2		97.2	98.1
	サンプル 3		102.7	96.2
50 サンプルの安定性	サンプル 1	RSD %	2.4	2.9
	サンプル 2		2.9	4.6
	サンプル 3		1.4	4.3

DL および MDL

図3に、検量線用標準溶液のレベル1(最も低いレベル)の10回繰り返しの重ね書きクロマトグラムを示します。50 ppt Cr(III)および5 ppt Cr(VI)。クロマトグラムのS/N比より、溶液のDLは、Cr(III)とCr(VI)でそれぞれ3.1 pptおよび2.0 pptとなりました。peak-to-peak ノイズ値は図に示した領域とし、DLはS/N=3の濃度から算出しました。算出されたDLは、EN71-3の玩具材料カテゴリー2を順守するのに十分低い値でした。メソッドの検出下限(MDL)も、10個のクロマトグラムより算出しました。MDLは、表3に示した通り、定量値の3σに相当する濃度として定義しました。

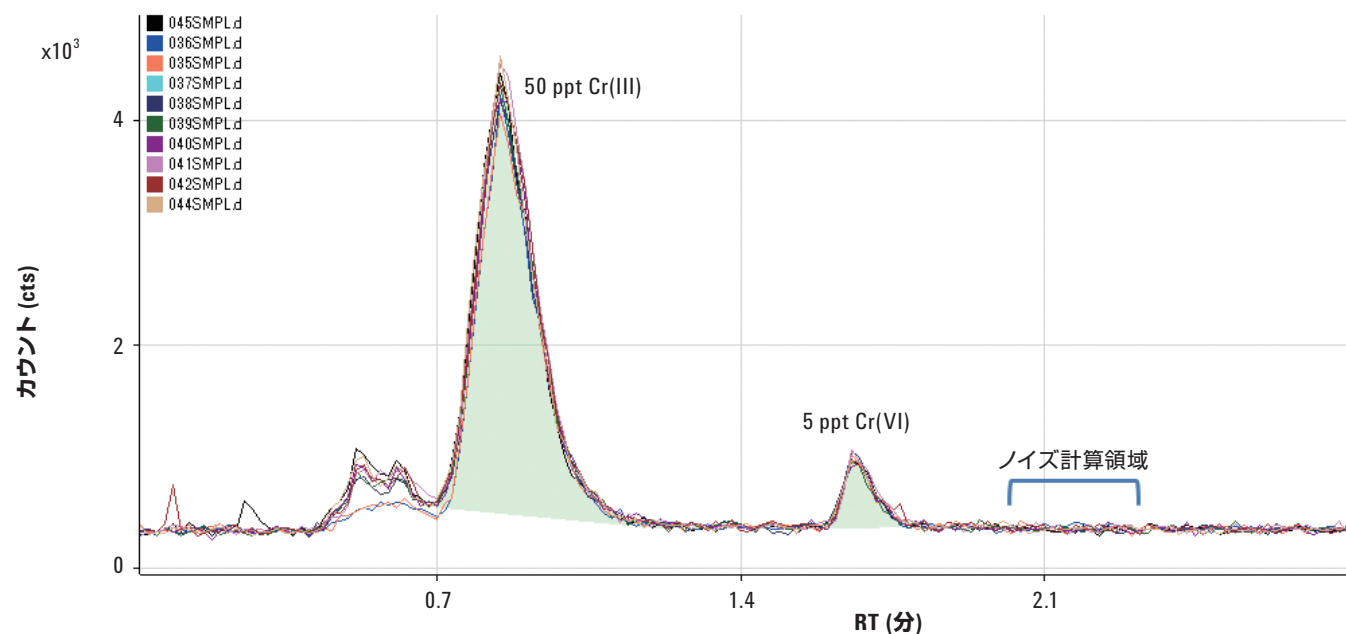


図3. レベル1標準試料の10回繰り返しかロマトグラム 50 ppt Cr(III) および 5 ppt Cr(VI)

高濃度 Cr(III) のピークテールの影響

図 3 は 2 つの Cr 種の良好な分離を示していますが、通常 Cr(III) の濃度は Cr(VI) に比べ圧倒的に高くなります。つまり、微量に存在する Cr(VI) を正確に定量するためには、大量に存在する Cr(III) から確実に分離しなければなりません。図 4 に、200 ppb Cr(III) 存在下の 0.1 ppb Cr(VI) のクロマトグラムを示します。右の拡大されたクロマトグラムに、0.1ppb Cr(VI) のピークが容易に認識できます。0.097 ppb (回収率 97 %)、誤差範囲± 0.003 ppb (10 回繰り返し測定 of the SD より計算) という値が算出されました。これより、2000 倍濃度が高い Cr(III) 存在下においても、Cr(VI) が高精度で定量出来ることが証明されました。

ウォッシュアウト試験

Cr(VI) には低 DL が要求されるため、高濃度サンプル注入後のキャリーオーバーが心配されます。LC-ICP-MS メソッドのウォッ

シュアウトを確認するため、Cr 溶液 100 ppb 測定前後に、ブランクサンプルを分析しました。ブランクサンプルにて定量された Cr 種は、両種とも DL 値以下でした。

玩具材料サンプル分析:

定量、スパイク回収試験および安定性

3 種類の玩具材料を分析しました。クレヨン (サンプル 1)、発砲液 (サンプル 2)、ソフトプラスチック (サンプル 3) これらは EN71-3 にてそれぞれカテゴリー 1、2、3 に分類されます。図 1 に示した手順にて前処理をし、上記の LC-ICP-MS メソッドにて分析しました。それぞれのサンプルの Cr 種の定量結果を表 3 に示します。

抽出溶液を用いてスパイク回収試験を行いました。Cr(III) および Cr(VI) を溶液にスパイク添加し、それぞれ 1 ppb、0.1 ppb と

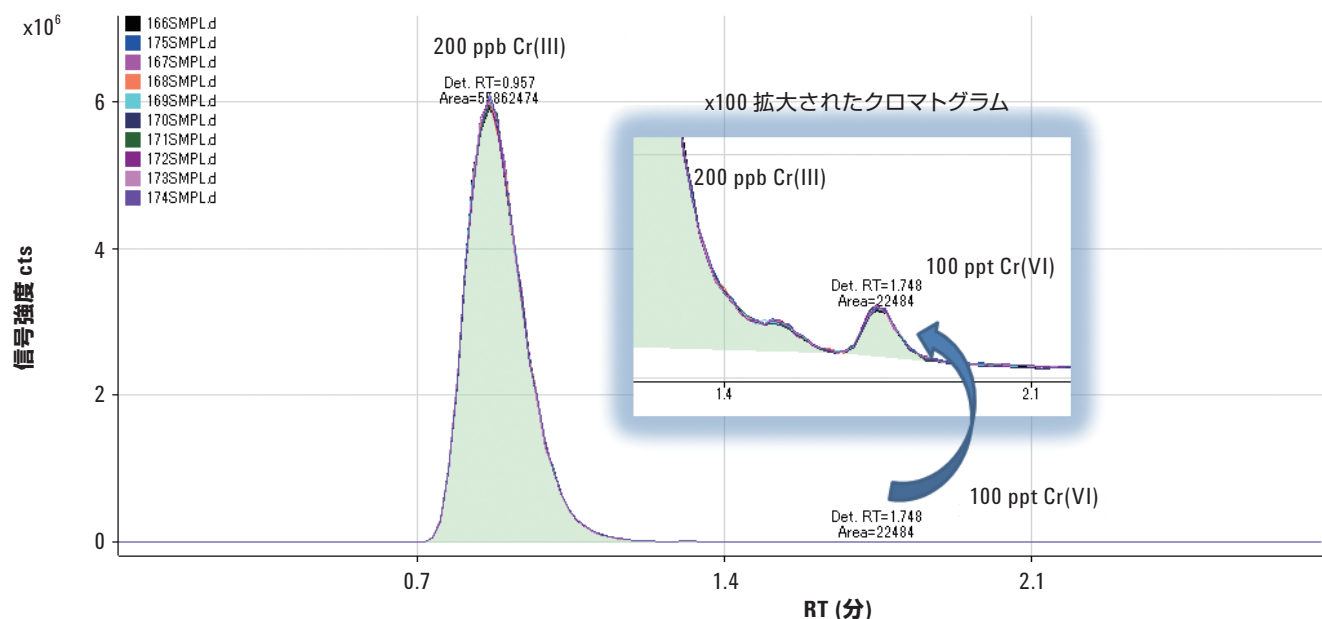


図 4. 200 ppb Cr(III) 存在下での 0.1ppb Cr(VI) の分離と測定

なるようにしました。スパイク添加は、アンモニア水にて中和した後に行い、Cr(VI) の還元を防ぎました。スパイク回収試験の結果を表 3 に示します。2 つの Cr 種共に良い結果が得られました。スパイク添加された抽出溶液サンプルを用い、長期安定性試験を行いました。図 5 に、玩具材料 3 種類の各 50～60 サンプルの測定結果を示します。図には、Cr 種の濃度および全測定の濃度平均が示されています。次のサンプルまでの測定時間はおよそ 4 分で、総測定時間は 3～4 時間でした。良好な安定性が確認され、Cr 種間の相互変換やサンプル前処理段階での損失が起こっていないことが証明されました。

結論

Agilent 7700x ICP-MS と Agilent 1260 バイオイナート LC を繋ぎ、玩具材料中の Cr(III) および Cr(VI) の分離と定量を、新しく改訂された EN71-3 : 2012 に沿って行いました。欧州安全規格 EN71-3 は、欧州玩具安全指令 2009/48/EC を支持し、規定されたメソッドで、サンプル前処理後に玩具材料中の Cr(VI) 10ppt を正確に測定することが求められます。メソッド開発にて、双方の Cr 種にて一桁 ppt の DL が達成でき、アプリケーションに求められる成果を挙げることができました。

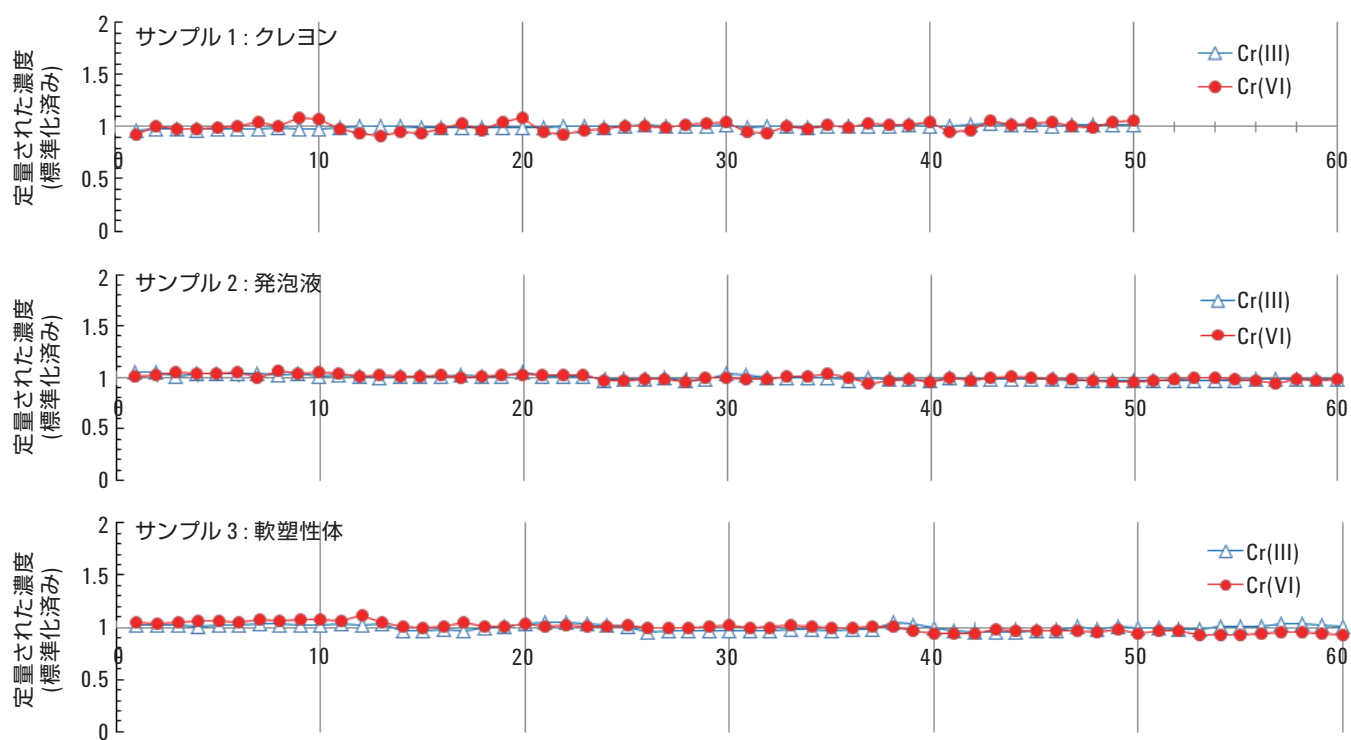


図 5. Cr(III) および Cr(VI) の 50 サンプル信号安定性 (200 分) 分析前に 1 ppb Cr(III) および 0.1 ppb Cr(VI) をスパイクした 3 種類の玩具溶液

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2013
Published August 1, 2013
5991-2878JAJP



Agilent Technologies