



GC/MS による マグロ中のメチル水銀測定のための 同位体希釈法

アプリケーション

環境

著者

Giuseppe Centineo,
J. Ignacio García Alonso
University of Oviedo
Faculty of Chemistry
Department of Physical
and Analytical Chemistry
Julián Clavería 8
33006 Oviedo
Spain

概要

電子イオン化による GC/MS を用いて、魚サンプル中のメチル水銀を測定するスペシエーションメソッドを開発しました。このメソッドは、 ^{201}Hg 濃縮メチル水銀を含むスパイクを用いた同位体希釈をベースにしています。スパイクを行ったマグロサンプル中のメチル水銀測定では、良好な結果が得られました。



Agilent Technologies

はじめに

数ある水銀化合物のなかでも、環境中に蓄積し、分解されにくい特性を持つメチル水銀は、もっとも危険性の高い物質です。環境レベルで研究を実施するために、感度、選択性、精度の優れた分析メソッドが求められています。メチル水銀分析では、サンプルマトリックスからメチル水銀を単離するという最初の手順から困難を伴うことがあります。マトリックスからの分析物の回収率は必ずしも定量的ではないため、単離における回収率を求める必要があります。この手順には通常、標準添加手法が用いられますが、最近では同位体希釈質量分析法 (IDMS) が用いられることもあります。

同位体希釈 (ID) 法は、一般的な校正手法よりも優れた精度と正確さを備えています。ID を用いた微量元素スペシエーションは、ICP-MS に広く適用されています。近年では、試験ラボのルーチン手法である GC/MS にも使用されています。

実験

試薬

Aldrich (シュタインハイム、ドイツ) から塩化モノメチル水銀 (96%) を入手しました。原液の調製にあたっては、酢酸 (Merck, ダルムシュタット、ドイツ) およびメタノール (Merck) の 3:1 混合液に塩化物を溶解しました。すべての標準溶液を -18°C の冷暗所に保管し、希釈した試験溶液については、分析前に毎日計量して調製しました。酢酸 (Merck) およびメタノール (Merck) を用いて、固体マトリックスから有機スズ化合物を抽出しました。

2% (w/v) のテトラエチルホウ酸ナトリウム (Galab, ゲーストアハト、ドイツ) 溶液を 0.1 M 水酸化ナトリウム溶液 (Merck) で毎日調製しました。

適量の 0.2 M 酢酸 (Merck) と 0.2 M 酢酸ナトリウム (Merck) 溶液を混合し、pH 5.3 のバッファ溶液を調製しました。

ISC-Science (オビエド、スペイン) から入手したスパイク溶液 (^{201}Hg 濃縮モノメチル水銀) をメタノールと酢酸の混合液 (3:1) により重量に応じて希釈し、 -18°C の冷暗所で保管しました。表 1 は、スパイク溶液における同位体組成とブチルスズ化合物の濃度を示しています。

表 1. 同位体組成 (含有%) と ^{201}Hg 濃縮モノメチル水銀の濃度 (不確かさは 95% 信頼区間に相当)

Hg-196	Hg-198	Hg-199	Hg-200
<0.01	0.043 (2)	0.109 (5)	0.890 (10)
Hg-201	Hg-202	Hg-204	
96.495 (29)	2.372 (22)	0.091 (5)	

濃度: $5.49 \pm 0.02 \mu\text{g g}^{-1}$ (Hg に換算)

詳細については www.isc-science.com を参照してください。

使用装置

GC/MS: スプリット/スプリットレスインジェクタおよび HP-5MS キャピラリカラム (架橋結合 5% フェニルメチルシロキサン、30 m x 内径 0.25 mm x 0.25 μm コーティング) を備えた Agilent 6890N GC と、Agilent 5973 ネットワーク MSD (四重極型) を組み合わせました。

キャリアガスにはヘリウムを使用し、 1.2 mL min^{-1} のコンスタントフローに設定しました。カラム温度については、最初の 1 分は 60°C で維持し、 $30^{\circ}\text{C min}^{-1}$ で最終温度の 300°C まで昇温しました。注入には、スプリット/スプリットレスインジェクタを使用し、スプリットレスモードで行いました。トランスファーライン温度とイオン源の温度は、それぞれ 280°C および 230°C としました。電子エネルギー 70 eV で電子イオン化を行いました。1 質量あたり 10-ms のドウエルタイムを用いて、分子イオンについてメチル水銀の同位体比を測定しました。

マニュアル抽出に用いた固相マイクロ抽出 (SPME) 装置、ホルダーアセンブリ、複数の交換式ジビニルベンゼン/カルボキセン/ポリジメチルシロキサン (DVB/CAR/ PDMS, 50 $\mu\text{m}/30 \mu\text{m}$) ファイバーは、Supelco (マドリッド、スペイン) から購入しました。

マグロサンプルからのメチル水銀抽出および誘導体化

抽出にあたっては、サンプル約 0.4 g に ^{201}Hg 濃縮メチル水銀溶液を添加し、飽和塩化ナトリウム溶液 15 mL および濃塩酸 100 μL と混合しました。室温で 5 時間にわたって混合液を機械的に攪拌しました。

酢酸/酢酸ナトリウムバッファ 3 mL を用いて、抽出液 3 mL を SPME ガラスバイアル中で pH 5.3 に調製しました。テトラエチルホウ酸ナトリウム 1 mL を加えたのち、バイアルを直ちに PTFE コーティングシリコンラバーセプタムで密封しました。SPME ニードルをセプタムに挿入し、ファイバーを室温で 15 分にわたって溶液ヘッドスペースに曝露しました。PTFE コーティング磁気攪拌子を用いて、溶液を一定の速度で強く攪拌しました。最後に、ファイバーをニードル内に引き抜いて GC インジェクタに移し、260°C で 1 分間、熱脱着させました。ヘッドスペース固相マイクロ抽出 (HS-SPME) の際には、サンプルバイアルを水槽に浸して温度をコントロールしました。

結果と考察

GC/MS による同位体比測定

ICP-MS では元素同位体比を容易に得られますが、GC/MS の場合、分子イオンの同位体パターンは、天然に存在する元素の同位体パターンとは異なります。この差異は、 ^{13}C の存在により金属と結合した有機官能基に起因します。観察される $m+1$ イオンにおける ^{13}C の寄与は、式 1 によりきわめて簡単に計算することができます。

$$I_{m+1} = I_m \cdot n x_{13\text{C}} \quad (1)$$

$x_{13\text{C}}$ は ^{12}C に対する ^{13}C の相対存在量 (0.0111/0.9889)、 n は分子イオン中の C 原子の数、 I はイオン m および $m+1$ の強度です。 $m+1$ に対する ^{13}C の影響を考慮し、 ^{198}Hg 、 ^{199}Hg 、 ^{200}Hg 、 ^{201}Hg 、 ^{202}Hg 同位体に対応する 5 つの分子クラスターをモニタリングし、測定したシグナル強度を補正しました。使用した強度 (I) 補正式は以下のとおりです。

$$^{198}\text{Hg} = I_{198} \quad (2)$$

$$^{199}\text{Hg} = I_{199} - x(^{198}\text{Hg}) \quad (3)$$

$$^{200}\text{Hg} = I_{200} - x(^{199}\text{Hg}) \quad (4)$$

$$^{201}\text{Hg} = I_{201} - x(^{200}\text{Hg}) \quad (5)$$

$$^{202}\text{Hg} = I_{202} - x(^{201}\text{Hg}) \quad (6)$$

x は寄与因子 $m+1$ です。表 2 に、GC/MS によるメチル水銀測定にあたって選択した分子クラスターと、寄与因子 x を示しています。

表 2. メチル水銀のモニタリング質量と寄与因子

対応する Hg 同位体	SIM モードにおいて 選択した m/z (MeEtHg^+)
198	242
199	243
200	244
201	245
202	246

$$X(m+1) = 0.034$$

標準物質の分析

すでに述べた ID 手順により、標準物質 BCR 464 (マグロ) 中のメチル水銀を測定しました。各認証済み標準物質について、3 回の個別のスパイク実験を実施し、各サンプルを 3 回にわたって GC/MS システムに注入しました。表 3 に、標準物質の GC/MS 分析で得られた結果を示しています。

表 3. 定量に $^{202}/^{201}$ 同位体比を用いた BCR 464 中メチル水銀の測定結果 (単位は Hg として $\mu\text{g g}^{-1}$)

繰り返し	メチル水銀
1	5.09 ± 0.06
2	5.02 ± 0.09
3	5.04 ± 0.05
平均	5.05 ± 0.04
RSD (%)	0.71
認証値	5.12 ± 0.16

認証済み標準物質 BCR 464 中のメチル水銀濃度は、認証値と測定値が良好に一致しています。

結論

魚サンプル中のメチル水銀を精密かつ正確に測定するメソッドを開発しました。1 回の注入でサンプル中のメチル水銀濃度を計算することが可能で、時間のかかる較正、標準添加、回収率補正といった手順は必要ありません。この手法では、メチル水銀のスペシエーション分析で生じる可能性のあるすべてのエラーを補正するとともに、検出下限を向上させることが可能です。経験の少ないユーザーでも、迅速かつ簡単に適用できます。

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

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。

本文書に記載の情報、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。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2008
Published in Japan
September 18, 2008
5989-9725JAJP



Agilent Technologies