

# イオンクロマトグラフィー(IC)ICP-MSによる、 環境試料中のクロムのスペシエーション分析 アプリケーション

環境

## 著者

Tetsushi Sakai  
Agilent Technologies  
Musashino Center Building  
1-19-18 Naka-cho Musashino-shi  
Tokyo 180-0006  
Japan

Ed McCurdy  
Agilent Technologies  
Lakeside, Cheadle Royal Business Park  
Stockport  
United Kingdom

Steve Wilbur  
Agilent Technologies, Inc.  
3380 146th PI SE Suite 300  
Bellevue, WA 98007  
USA

## 要約要旨

クロム元素 (Cr) の微量分析は、様々な分野において関心が持たれています。環境中では、Cr は 3 価の Cr(III) 陽イオンと 6 価の Cr(VI) 陰イオンという、2 種の異なる酸化状態で存在します。哺乳動物にとって、Cr(III) はグルコースの代謝に関連する必須元素です。一方、6 価クロムは比較的低い濃度でも突然変異の誘発や発ガン性を示します。このような二面性があるため、Cr を全量測定するだけでは毒性を判断するために十分な情報を得ることができません。サンプル中の Cr に毒性があるかどうかを評価するためには、Cr のトータル濃度ではなく、Cr(VI) の濃度を測定する必要があります。サンプル中の Cr 濃度の毒性を正確に把握す

るための簡単で信頼性の高い分析手法として、イオンクロマトグラフィー法とオクタポールリアクションセル ICP-MS(誘導結合プラズマ質量分析) を組み合わせて、Cr(III) と Cr(VI) を分離した後に測定するという新しいメソッドを開発しました。このメソッドでは、サンプル前処理方法とクロマトグラフィーの条件が最適化されているため、硬度の高い飲料水のようなマトリックス濃度の高いサンプルにも適用できます。また、ICP-MS 側では、信号に干渉を与えるバックグラウンドイオンがリアクションセル中で除去される結果、優れた S/N 比がもたらされ、毒性を持つ Cr(VI) を 0.1 µg/L 未満の濃度で正確に定量することができます。

## はじめに

クロムの測定は、飲料水、食品、臨床サンプル(特に職業上の被曝を評価するため)といった幅広い分野で不可欠とされています。しかし、有害なのは 6 価の Cr(VI) であって、3 価の Cr(III) は人体に必須の元素です。Cr の毒性を把握するためには、単に Cr の全量を求めるのではなく、Cr(VI) の濃度を求めなければなりません。

この課題に対処するため、一般に 2 つのアプローチが使われます。ひとつは、トータル Cr 濃度が、Cr(VI) が毒性を示す濃度を下回っているなら、たとえ Cr のすべてが Cr(VI) であるとしてもその Cr 濃度は有毒なレベルではない、というものです。しかし、このアプローチでは、サンプルが Cr(III) を高い濃度で含む場合に偽陽性となるケースが大量に出てくるおそれがあります。そのため、もうひとつの方法として、正確性を求めて、Cr(VI) を分離して測定するか、理想を言えば、Cr を化学形態別に分離して測定し、Cr 全体の濃度と毒性のある Cr(VI) の濃度の両方を 1 回の分析で割り出すアプローチが必要になります。



Agilent Technologies

一般に、元素を化学形態別に分離、検出することは、通常ではそれほど困難ではありません。ただし、Crは例外です。これは、水のような天然に存在するサンプル中のCrの一般的な化学形態が、Cr(VI)ではクロム酸 ( $\text{CrO}_4^{2-}$ )、Cr(III)ではクロムイオン ( $\text{Cr}^{3+}$ ) だからです。クロム酸は陰イオンであり、クロムイオンは陽イオンです。そのため、単一のイオン交換メソッドでは同じ条件下で両方の化学形態を分析できません。また、元々のサンプルに存在するCrの化学形態が分析時点まで保たれるように、サンプルの採取、保存、前処理を行う間、細心の注意を払う必要もあります。

## 分析方法

本報では、サンプルに含まれるCrの化学形態が安定化するよう最適化した方法がとられています。サンプルをEDTAと共に40℃で反応させ、Cr(III)をEDTA錯体にするにより、単一のクロマトグラフィー法でCr(III) EDTAの錯体とCr(VI)を分離することが可能になっています。Cr(III)のEDTA錯体を形成する反応は時間と温度に依存し、60℃では1時間以内、40℃では3時間以内です。室温では、7時間の反応時間でも反応は完了しませんでした。

なお、この前処理方法を天然水サンプルに適用するには、比較的高い濃度のEDTAを必要とする点に注意してください

い。たとえば、硬度の高い飲料水では一般的にCaやMgが10 mg/L、100 mg/Lレベルの濃度で存在するため、Cr(III)と競合してEDTA錯体を形成しようとし、つまり、マトリックスの影響を受けて、Cr(III)の回収率が低くなるので注意が必要です。

本報で紹介する、イオンクロマトグラフィー(IC)法による分離とICP-MSによる測定の組み合わせは、シンプルで低コストなクロマトグラフィーの構成によってCrのスペシエーション分析ができる、理想的なメソッドです。また、ICP-MSでは、分離されたCr種を非常に低い濃度まで測定することができるため、Crの曝露レベルを正確に評価することができます。

ICP-MSは、検出器として非常に優れた感度を持ち、多くの微量元素に適用できます。また、コリジョン/リアクションセル(CRC)を搭載したICP-MSでは、Crの主要同位体である質量数52に干渉する、ArCやClOHを除去し、Crをより高感度に、より正確に測定することが可能となります。今回使用した、サンプルの前処理方法、カラムおよび分析条件を、表1に示します。また、Na-EDTAによるサンプルの安定化に加え、分離中もCr(III) EDTA錯体を安定させるために、EDTAを移動相にも添加しています。なお、pH 7に保つことが、Crの化学形態の安定とクロマトグラフィー分離に不可欠であることもわかりました。

表1. Cr スペシエーションのためのクロマトグラフィーの条件

Cr カラム	Agilent 部品番号 G3268A, 30 mm×4.6 mm(ID)
移動相	5 mM EDTA(2Na), NaOH によりpH 7に調整
流量	1.2 mL/min
カラム温度	室温
注入量	50~500 µL
<b>サンプル前処理</b>	
反応温度	40 °C
反応時間	3時間
EDTA濃度	5~15 mM, NaOH によりpH 7に調整

このアプリケーションノートで使用された流路構成を、図1に示します。移動相の送液には、接液部が非金属製のポンプ(Metrohm社 818 IC ポンプ)を使用し、Agilent インテグレートサンプル導入装置(ISIS)によって、サンプルの充填、流入を行っています。ICP-MS (ISIS付き)にポンプモジュールを追加したこのシステムは、IC や HPLC 装置と組み合わせたフルシステムに比べて、シンプルで低コストなシステムです。

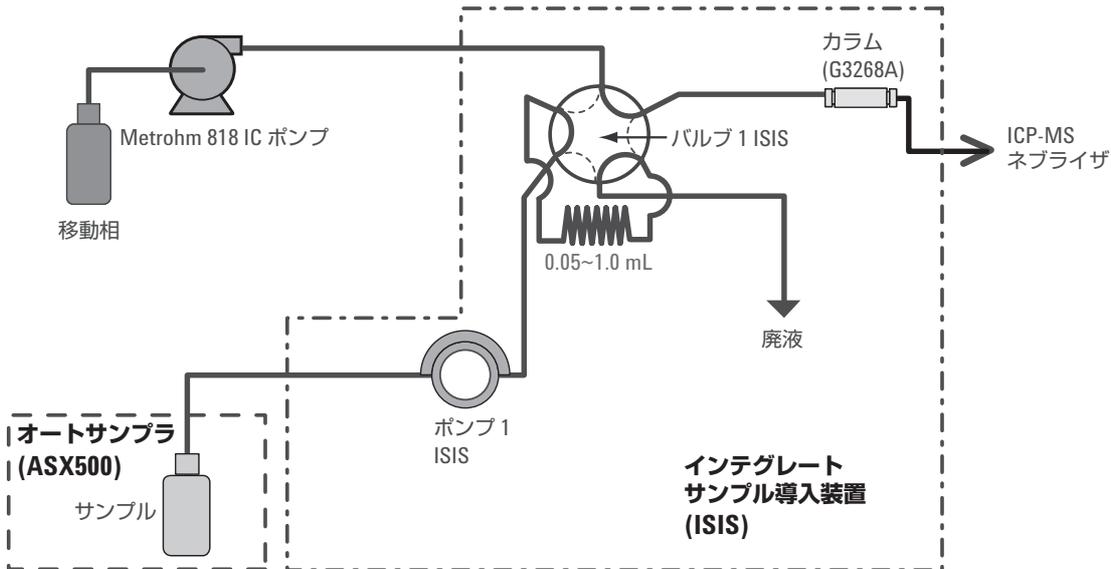


図1. Cr スペシエーションに使用したIC-ICP-MS 装置構成

## 分析結果と考察

質量数 52 の Cr に対する ArC と ClOH の干渉を除去するため、Agilent 7500ce を用い、H<sub>2</sub> セルガスモードにおける測定の結果、それぞれの Cr 種に対して 20 ng/L 未満の検出下限を得ることができました。詳細を表 2 に示します。多くの規制では、6価の Cr に対する許容濃度の限界値として 1 µg/L という数値が定められています。したがって、測定に必要とされるのはこの濃度の 10 分の1 の検出下限(100 ng/L) となり、100 µL の少量サンプル注入でもこの要求を満たすことができます。ここで、注入量を 500 µL に増加すれば、Cr(III) では 13.2 ng/L、Cr(VI) では 15.8 ng/L にまで検出下限を向上させることができました。

表2. IC-ICP-MSによるCr種の検出下限

注入量/ $\mu\text{L}$	RT/min		ピーク高さ/カウント		ピーク面積/カウント		DL (ng/L)*	
	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)
50	0.79	2.09	8548	4261	1082295	914804	69.5	139.4
100	0.79	2.09	13688	7173	1704312	1525147	43.4	82.8
250	0.85	2.21	33967	20830	4939876	4546219	17.5	28.5
500	0.97	2.39	44870	37502	10268086	9398651	13.2	15.8

\*検出下限は、標準試料のクロマトグラム上のピーク比較でS/N比が3倍となる濃度としました。

標準液の場合、図2で示すようにどちらのCr種に対しても優れたS/N比が実現されています。このクロマトグラムでは、注入量500 $\mu\text{L}$ で、各0.1 $\mu\text{g/L}$ (ppb)の濃度のCr種の分離が示されています。ピークはバックグラウンドの上にきれいに検出されており、約3分で2つのCr種が分離・検出されていることがわかります。

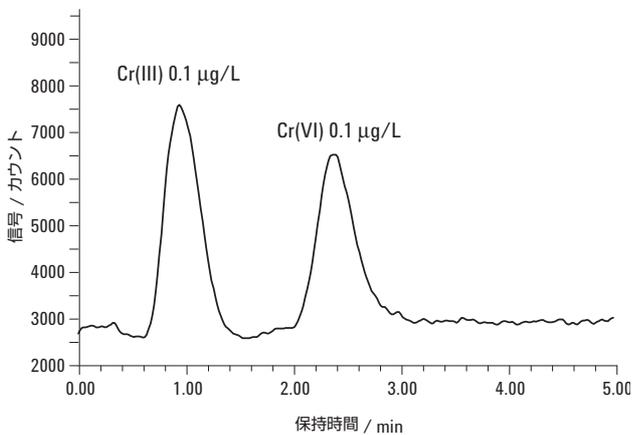


図2. 各0.1 $\mu\text{g/L}$ のCr(III)とCr(VI)の分離と検出

一連の低濃度の標準液を使用して、2つのCr種に対して検量線を作成しました。定量はピーク面積に基づいています。Cr(III)およびCr(VI)の検量線は、それぞれ図3と図4に示されています。どちらも優れた感度と直線性を示していることがわかります。

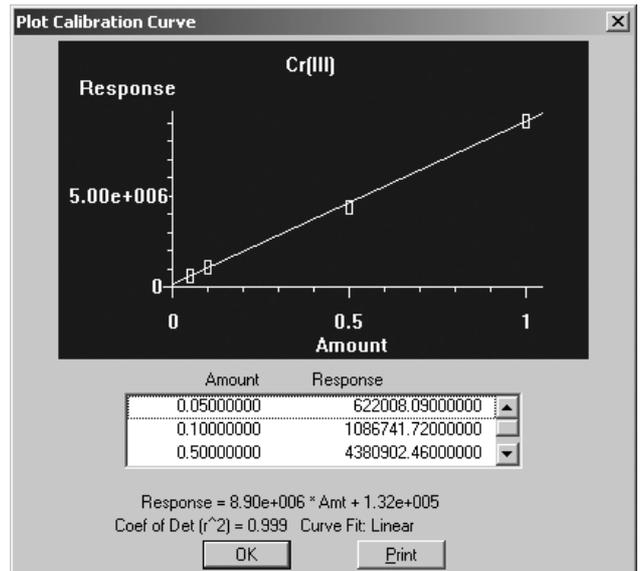


図3. Cr(III)の検量線 — 標準液濃度0.05、0.1、0.5、1.0 $\mu\text{g/L}$

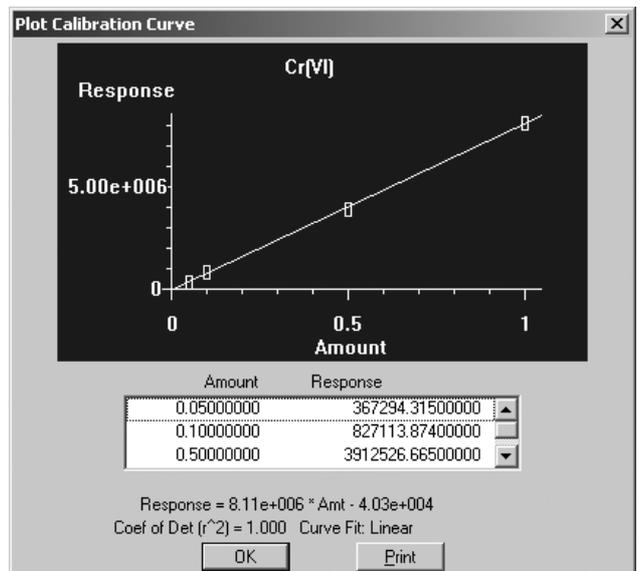


図4. Cr(VI)の検量線 — 標準液濃度0.05、0.1、0.5、1.0 $\mu\text{g/L}$

感度や化学形態の安定性、分離および検量線の直線性に加えて、メソッドをルーチン分析で使用するには、長期間にわたる安定性も不可欠です。クロマトグラフィー分析においては、安定性は保持時間の安定性とピーク面積の安定性という2つの要因によって決まります。表3の結果は、これらのどちらについても、十分に安定していることを示しています。

## 実サンプルの分析

天然の水サンプル中のクロム種(特に6価のCr)を分析する場合に重要になるのは、その優れた感度、安定性、分離性能

を高濃度のマトリックスを含む実サンプルでも維持できるかどうかということです。実サンプルに対するメソッドの適合性を確認するため、Cr種を添加したもの、添加していないものの2つのミネラルウォーターで双方のCr種を定量しました。

最初に分析したサンプルは、フランスのミネラルウォーター(本報ではミネラルウォーターAとします)です。図5に、Crが添加されたものと添加されていないものに含まれている2つのCr種のクロマトグラムを示します。この水は、図5中の表に組成を示すとおり、約100 mg/LのCa、5 mg/L~20 mg/Lの範囲でK、Mg、Naを含む、典型的なミネラルウォーターです。

表3. 保持時間とピーク面積の安定性 (各Cr種の濃度0.5 µg/L、注入量500 µL)

回数	RT/min		ピーク高さ/カウント		ピーク面積/カウント	
	Cr(III)-EDTA	Cr(VI)	Cr(III)-EDTA	Cr(VI)	Cr(III)-EDTA	Cr(VI)
1	0.969	2.338	23514	18437	5331427	4621752
2	0.969	2.338	22642	18784	5280683	4758462
3	0.969	2.338	22832	18615	5220349	4742259
4	0.952	2.338	24104	19944	5470760	4800723
5	0.969	2.372	22797	19203	5287094	4726640
6	0.969	2.405	23830	19328	5498172	4760285
7	0.985	2.338	23971	19479	5481984	4824934
8	0.969	2.338	23393	19675	5474510	4883193
9	0.969	2.355	23070	20097	5355106	4892160
10	0.969	2.372	23826	19896	5428247	4886400
Avg	0.97	2.38	23398	19346	5382833	4789681
STD	0.008	0.014	534.45	581.88	100413.18	85782.42
RSD%	<b>0.80</b>	<b>0.57</b>	<b>2.28</b>	<b>3.01</b>	<b>1.87</b>	<b>1.79</b>

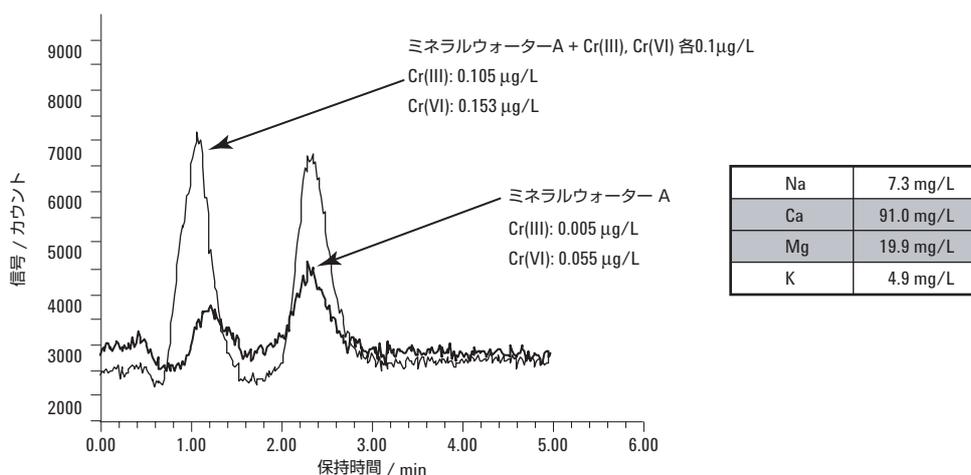


図5. 添加、未添加のミネラルウォーターAの主な元素形態組成 (mg/L) とクロマトグラム

ミネラルウォーター A の添加回収率データを表4 に示します。Cr 種の定量が非常に低い濃度で行われていること (Cr(III)、Cr(VI) がそれぞれ0.005 µg/L、0.055 µg/L)、サンプルへの低濃度の添加量に対する優れた添加回収率(どちらのケースでも誤差 5% 以内)が示されていることがわかります。

表4. ミネラルウォーターA に 0.1 mg/L 添加した Cr(III)と Cr(VI) の添加回収率

元素	ミネラルウォーターA	検出 (µg/L)		回収率(%)
		添加量	測定結果	
Cr(III)	0.005	0.10	0.105	100.0
Cr(VI)	0.055	0.10	0.150	95.0

次に分析したサンプルは、市販のミネラルウォーターの中で最も高いレベルのカルシウムと硫酸塩を含む(450 mg/L 以上の Ca、1000 mg/L 以上の硫酸塩)、フランスのミネラルウォーター (本報ではミネラルウォーターBとします)です。ミネラルウォーター A のサンプルと同様に、ミネラルウォーター B についても 2 つの Cr 種を添加したものと、添加していないものの両方を分析し、添加回収率を確認しました。測定結果のクロマトグラムを図6 に示します。表5 は、添加回収率の結果です。

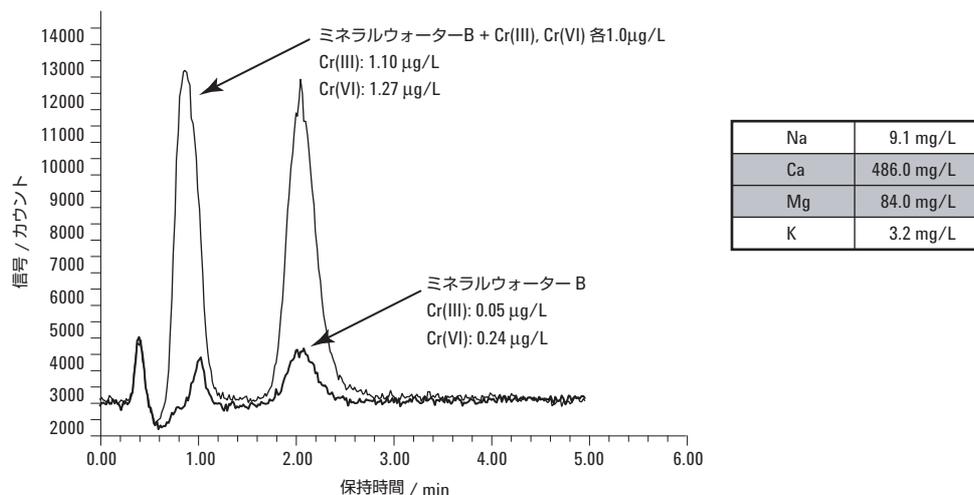


図6. 添加、未添加のミネラルウォーターBの主な元素形態組成(mg/L)とクロマトグラム

ミネラルウォーターBの主成分はクロマトグラムの中で表に示されています。ミネラルウォーターBのミネラル濃度が非常に高いことがわかります。それにもかかわらず、最適化されたサンプル前処理法および分析法により、両方のCr種に対して、分離、添加回収率ともに優れた結果が得られました。

このような高いマトリックスを含むサンプルにもかかわらず、低濃度で添加された2つのCr種について良好な測定結果が得られることから、サンプル中のCrの化学形態を安定させる前処理方法が有効であることがわかります。つまり、Cr(III)の錯体を生成するために十分なEDTA量を加えられていることがわかります。

## 結論

高マトリックスを含む天然の水サンプルについて、前処理でCr(III)およびCr(IV)を安定化させた後、分離・分析するための新しいメソッドを開発しました。このメソッドでは、100 µL 注入では0.05 µg/L、500 µL 注入では0.015 µg/Lという検出下限が得られました。

1サンプル約3分間で、Cr(III)とCr(VI)は分離されました。また、500 mg/L以上のミネラル成分を含むような、マトリックスが高い濃度で存在するサンプルにおいても、この2つのCr種の分離と定量の精度を確実に維持することができました。

H2をセルガスに用いたAgilent 7500ceにより、低濃度(0.1 µg/L)のCrを干渉の影響を受けずに正確に定量することができました。

表5. ミネラルウォーターBに1.0 µg/L 添加したCr(III)とCr(VI)の添加回収率

元素	ミネラルウォーターB	検出 (µg/L)		
		添加量	測定結果	回収率(%)
Cr(III)	0.05	1.0	1.10	105
Cr(VI)	0.24	1.0	1.27	102

## 詳細情報

Agilentの製品およびサービスの詳細については、  
当社のWebサイト ([www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)) を  
ご覧ください。

お問い合わせは： 0120-477-111  
横河アナリティカルシステムズ株式会社  
〒192-0033 東京都八王子市高倉町9-1

Agilent は、本文書に含まれる誤り、および本文中製品の据付、作動、または使用  
に関連して付随的または間接的に引き起こされる損害について、一切の責任を負い  
ません。

本文書に記載の情報、説明、および仕様は、予告なく変更されることがあります。

© Agilent Technologies, Inc. 2005

Printed in the USA

March 21, 2005

5989-2481JAJP