

LC(IC)-ICP-MS を用いた Cr(III) と Cr(VI) のスペシエーション分析

アプリケーションノート

環境

著書

田野島三奈¹、酒井徹志¹、
Craig Jones²

1. Agilent Technologies
Tokyo, Japan

2. Agilent Technologies
Santa Clara, CA, USA



はじめに

クロム (Cr) はステンレススチールや他の合金に用いられ、耐食性めっきとして他のスチールや金属に混合され、顔料としても使われます。Cr は主に 3 価クロム (Cr(III)) と 6 価クロム (Cr(VI)) の酸化状態で存在します。Cr(III) は人体において必須の元素ですが、Cr(VI) は毒性が強く、発癌性物質であることが知られており、価数により特性が大きく異なります。よって Cr は、環境、食品、飲料水、薬品、日用品において厳しく規制されています。飲料水においては、世界的に Cr の含有量が 50~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ (ppb) 以下と定められていますが、アメリカ合衆国環境保護庁 (EPA) カリフォルニア州環境保健有害性評価局 (EHHA : Office of Environmental Health Hazard Assessment) が近年定めた Public Health Goal には、飲料水中の Cr(VI) の濃度の「無視できないレベル」が 0.02 $\mu\text{g}/\text{L}$ (20ppt) だと提言しました。



Agilent Technologies

EPA は Cr(VI) に関しても、ヨーロッパで定められている RoHS 指令 (Cr(VI) も含めた電子・電気機器における特定有害物質の使用制限) のように、産業面でも Cr(VI) の一定暴露量を厳しく管理し、規定を設けようとしています。近年の研究では、Cr(VI) の微量な摂取でも健康を害するとの報告もあります。そのため、あらゆるサンプル中の Cr(III) と Cr(VI) を、種別に、高感度かつルーチン分析することが重要です。そこで、本アプリケーションノートでは、ICP-MS のオクタポールリアクションシステムの He モードを使用した、HPLC-ICP-MS での Cr のスペシエーション分析をご紹介します。

実験

Agilent 7700 シリーズ ICP-MS に搭載されている第 3 世代オクタポールリアクションシステム (ORS³) セルを使用すれば、あらゆる分子干渉の存在下でも Cr を高感度かつ選択的に分析することができます。本測定においては、C 起因 (ArC) と Cl 起因 (ClO) の分子が、Cr の同位体質量数 52 と 53 に干渉することが考えられます。ORS³ セルの He ガスを使用すればマトリクス起因の分子干渉を除去し、両同位体を確実に定量することができます。しかし、Cr(VI) を定量するためには ICP-MS で定量する前に、液体クロマトグラフ (LC) やイオンクロマトグラム (IC) を使い Cr(III) から完全に分離させなければなりません。Cr(VI) のみの定量は簡単に実現できますが、Cr(III) と同時に分析するには、溶液下では Cr(III) が陽イオンで、Cr(VI) が陰イオンで存在するため、測定は容易ではありません。また、実サンプルでは、カラム内で分子結合が起こり、回収率の低下や保持時間のずれが生じる場合があります。新たに開発されたメソッドでは、LC-ICP-MS を用い、これらの問題も解決し、ルーチン分析に最適な測定方法を実現しました。

HPLC の条件

バイナリポンプ、オートサンブラ、真空デガッサを搭載した Agilent 1200 シリーズ高速液体クロマトグラム (HPLC) が使用されました。LC のサンプルラインには、サンプルが金属に触れないよう、バイオコンパチビリティキットを繋ぎ (部品番号 5065-9972)、PEEK など不活性な材質に取り換えられました。その後 HPLC は LC-ICP-MS 接続キットにより ICP-MS に接続されました。陰イオン交換カラム (内径 4.6 mm x 30 mm ポリヒドロキシメタクリレートベースレジン) が常温にて分離に用いられました。測定条件の詳細は表1に示されています。

ICP-MS の条件

Cr 種の定量に用いられた Agilent 7700x ICP-MS の測定条件が、表1に示されています。質量数 52 に干渉するマトリクス起因の分子、ArC や ClOH、質量数 53 に干渉する ClO を除去するために ORS³ の He モードが使用されました。⁵³Cr は ⁵²Cr の測定結果の参考のために定量されました。He ガスはセルガスとしての干渉分子にも適応できるため、全ての測定は He モードで行われました。

表1. HPLC と ICP-MS の測定パラメータ

HPLC パラメータ	
Cr カラム	Agilent 陰イオン交換カラム、 部品番号 G3268-80001 4.6 mm x 30 mm
移動相	5 mM EDTA (2Na)* – 5 mM NaH ₂ PO ₄ /15 mM Na ₂ SO ₄ 、pH = 7.0 (NaOH により調製)
流量	1.2 mL/min
カラム温度	常温
注入量	100 µL
ICP-MS パラメータ	
RF 出力	1550 W
サンプリング深さ	8 mm
キャリアガス	1.05 L/min
積分時間	0.5 s/mass
測定元素	⁵² Cr、 ⁵³ Cr
セルガス	He 4 mL/min

* 高純度 Na-EDTA (同仁堂、日本) が用いられ、他の微量金属からの汚染は確認されませんでした

結果と考察

上記の条件で Cr 種の定量を行ったところ、検出下限は $^{52}\text{Cr(III)}$ 、 $^{52}\text{Cr(VI)}$ 共に 200 ng/L 以下でした。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。5 μL から 100 μL の注入量毎の検出下限を図 2 に示します。

飲料水分析

このメソッドを用いてミネラルウォーター中の Cr(III) と Cr(VI) の定量と添加回収試験が行われました。サンプルは、日本産のミネラルウォーター (Water A) と 2 種類のフランス産ミネラルウォーター Water B と Water C です。3 種類のミネラルウォーターは様々なミネラル含有量を持ち、特に Water C は高濃度のミネラルを含んでいます。サンプルの主な含有物は表 3 に示してあります。

図 1 にスパイク添加なしと、Cr(III) と Cr(VI) それぞれ 10 $\mu\text{g/L}$ スパイクされた Water A のクロマトグラムを示します。表 4 には 3 サンプルの長期安定性試験の結果 (8 時間、 $n=30$) が示してあります。良好な長期安定性試験結果と正確な ppb レベルの回収率が得られ、このメソッドの有効性が証明されました。高ミネラルを含む Water C の結果も良好でした。Cr(III) と Cr(VI) のピーク面積の RSD と、濃度の RSD は共に 2.5 % 以下で、ルーチン分析に適した再現性と安定性を証明しています。さらに、EDTA により Cr(III) を Cr(III)-EDTA として錯体化することにより Cr(III) と Cr(VI) の相互作用を防ぎ、より良い添加回収試験結果を実現することができました。

表 3. 3 種類のミネラルウォーターの主な含有物と量

元素	Water A (ppm)	Water B (ppm)	Water C (ppm)
Na	6.5	11.6	9.4
Ca	9.7	11.5	468
Mg	1.5	8	74.5
K	2.8	6.2	2.8
硫酸塩	-	-	1121

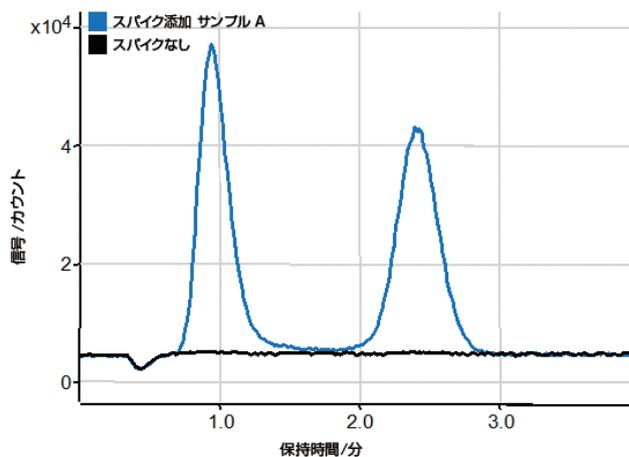


図1. Water A のクロマトグラムの重ね書き—スパイクなし (黒)、10 $\mu\text{g/L}$ スパイク添加 (青)。Cr(III) は 1 分以内に溶離され、Cr(VI) は 2.5 分以内に溶離された

表 4. 10 $\mu\text{g/L}$ スパイク添加のミネラルウォーターの濃度と長期安定性試験結果 (8 時間、 $n=30$)

サンプル		$^{52}\text{Cr(III)-EDTA}$		$^{52}\text{Cr(VI)}$	
		面積	濃度 $\mu\text{g/L}$	面積	濃度 $\mu\text{g/L}$
Water A	平均	906410	10.4	913019	10.3
	%RSD	1.4	1.4	2.1	2.1
Water B	平均	933560	10.7	920154	10.3
	%RSD	1.0	1.0	2.3	2.3
Water C	平均	900775	10.3	879234	9.9
	%RSD	0.8	0.8	1.4	1.4

表 2. 注入量別、Cr 種の検出下限

注入量 (μL)	ピーク高さ/カウント		ノイズ	ピーク面積/カウント		DL ($\mu\text{g/L}$)	
	$^{52}\text{Cr(III)}$	$^{52}\text{Cr(VI)}$		$^{52}\text{Cr(III)}$	$^{52}\text{Cr(VI)}$	$^{52}\text{Cr(III)}$	$^{52}\text{Cr(VI)}$
5	32621	24233	204	514586	503778	1.88	2.53
20	130764	97934	314	2101007	2007572	0.72	0.96
50	323593	241948	300	5154321	4970771	0.28	0.37
100	632808	475244	274	10204281	9796463	0.13	0.17

Cr(VI) の超微量分析

上記で開発されたメソッドは飲料水中の Cr(III) と Cr(VI) を同時に測定するものですが、カリフォルニア州環境保健有害性評価局が 2009 年に定めた Public Health Goal では、飲料水中の Cr(VI) 濃度を 0.02 µg/L と提案しています。そのため、Cr(VI) のみを高感度かつ選択的に測定するために更なるメソッドを開発しました。分離には同じカラムを用いましたが、サンプル注入量を増やし、移動相中の EDTA (2Na) の濃度を減らしました。この大容量注入により、Cr(III) はウォーターディップに重なるため、測定は不可能になります。

大容量注入と新しい移動相により、Cr(VI) の検出下限は 1 ppt ng/L (ppt) まで改善されました。飲料水中には高濃度の陰イオンが存在しますが、図 2 に示されている 50 ng/L 標準溶液と 3 つのカリフォルニア飲料水にて、ピーク形状の変形や保持時間のずれは起こりませんでした。0.05~1.00 µg/L の検量線の相関係数は 0.9995 以上で、図 3 に示されているように、検出下限は 0.008 µg/L となりました。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。

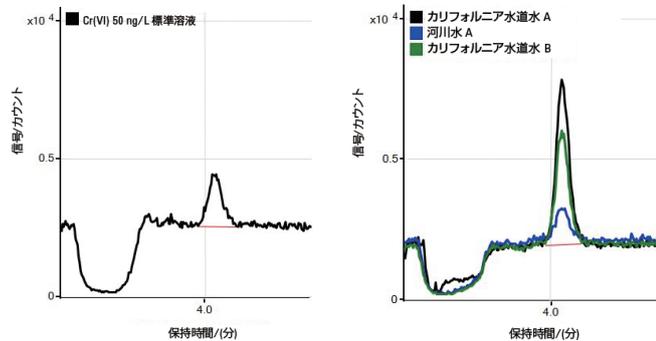


図2. 50 ng/L Cr(VI) 標準溶液 (左) と 3 つのカリフォルニア州で採取された水サンプル (スパイクなし、右) のクロマトグラム

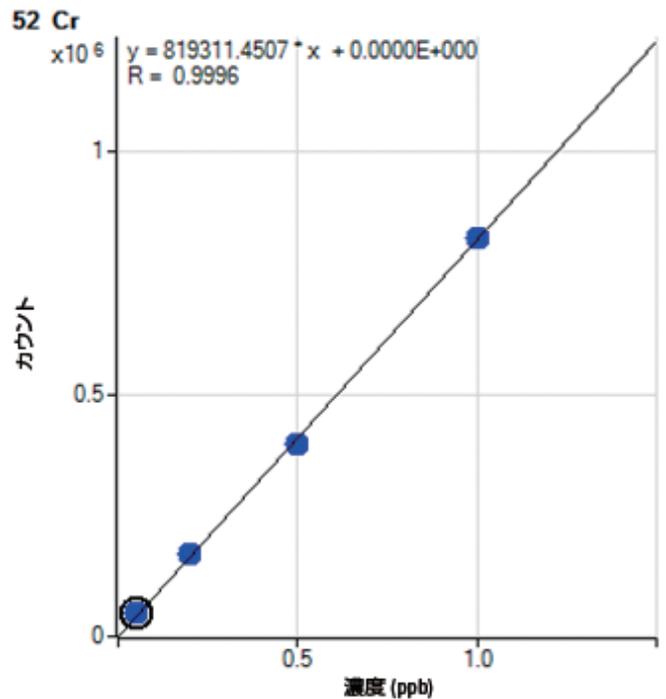


図 3. 新たに開発されたメソッドでの Cr(VI) の検量線

表 5 に、カリフォルニア州で採取された 2 つの飲料水 (水道水 A と水道水 B)、河川水 (河川水 A) の定量結果と添加回収試験結果を示します。全てのサンプルは、カリフォルニア州の規制値である 0.02 ppb を超えていました。水道水 A のスパイク添加なしクロマトグラムと Cr(VI) を 0.5 µg/L スパイク添加したクロマトグラムを重ね書きしたものを図 4 に示します。

表 5.3 種類の水サンプルの分析結果と 0.5 µg/L スパイク添加された Cr(VI) の添加回収率 (単位は µg/L)

	水道水 A			水道水 B			水道水 C		
	スパイク 添加なし	スパイク	回収率 (%)	スパイク 添加なし	スパイク	回収率 (%)	スパイク 添加なし	スパイク	回収率 (%)
1	0.1840	0.6335	90.58	0.1203	0.6198	99.12	0.0411	0.5231	96.27
2	0.1772	0.6470	93.28	0.1281	0.6222	99.60	0.0423	0.5282	97.30
平均	0.1806	0.6403	91.93	0.1242	0.6210	99.36	0.0417	0.5256	96.79

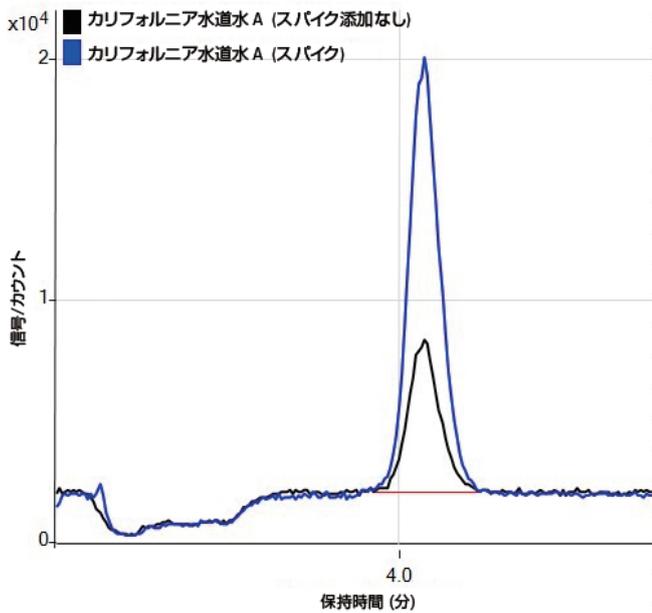


図 4. 0.5 µg/L スパイク添加された Cr(VI) とスパイクなしの水道水 A のクロマトグラム

結論

陰イオン交換クロマトグラフィーを用い、陽イオンである Cr(III) を EDTA により錯体化し、正確で、高感度な Cr のスペシエーション分析が可能になりました。このメソッドを用いれば、3 分という高速で、両種とも 200 ng/L 以下の低濃度を測定することができます。移動相の改善と注入量の増量で、Cr(VI) の高感度分析も可能です。この場合、Cr(III) との同時分析は困難ですが、Cr(VI) の検出下限は約 0.008µg/L (8 ppt) まで改善されました。これにて、カリフォルニア州環境保健有害性評価局が提案する 0.02 µg/L を下回る濃度の定量が可能になりました。

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. 2012
Published January 23, 2012
5990-9366JAJP



Agilent Technologies