

HPLC-ICP-MSによるセメント抽出試料および 大気浮遊粒子のクロムのスペシエーション分析

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社 エレメンタル営業

EL09006

Key Words

- ICP-MS
- HPLC
- クロム
- スペシエーション
- 浮遊微粒子

はじめに

クロムの酸化状態と化学形態は、この元素の毒性、バイオアベイラビリティ、生物学的利用能、移動性などに大きな影響を及ぼします。たとえば、3価クロム(Cr^{III})は多くの生化学的機能に不可欠であるのに対して、6価クロム(Cr^{VI})はその高い酸化電位と皮膚、呼吸器系、消化器系などに対する障害性により、強い毒性を示します。そのため、各化学種別の濃度を測定して総クロム濃度との関係を適切に理解するために、高感度に定量できるクロムのスペシエーション分析法の必要性が高まっています。

クロムは多くの工業用途で使用されており(たとえば、クロムめっき、ステンレス鋼の製造、塗料、顔料やセメント製造)、製品中の含有量に対して、および職業上曝露から従事者を保護するさまざまな規制が各国で定められています。欧州委員会(EC)指令2003/53/ECでは、ウェットセメントに含まれる6価クロムは2ppm以下に規定されており、また指令2000/53/ECでは、路上走行車の耐食コーティングに使用できる6価クロムは2 g以下に規定されています。米国労働安全衛生局(OSHA)は、職場の空気中の6価クロムの許容曝露限界として0.5 μg/m³を提案しています(OSHA Method ID-215)。

このアプリケーションノートでは、HPLC-ICP-MSパッケージを使用して、セメント抽出物や大気浮遊粒子に含まれるクロム種を測定するメソッドについてご紹介します。クロム種は、陽イオン交換カラムと100%水性酸性移動相を用いてオンラインで分離し、ICP-MSで検出しました。メソッドは標準物質(CRM BCR-545、溶接塵)を用いて評価し、メソッド検出限界を算出しました。

HPLC-ICP-MSの構成

Thermo Scientific SpectraSYSTEM™ HPLCとAS3500オートサンプラーを、HPLCインターフェイスキット(P/N 4600485)とSpectraSYSTEM HPLC接続ハーネス(P/N 4600488)を用いてXシリーズ 2 ICP-MSに連結しました。Xシリーズ 2は、標準の試料導入系とXtインターフェイスを用いてホットプラズマ条件下で操作しました。ICP-MSのソフトウェアPlasmaLabとHPLCのソフトウェアXcaliburのパッケージを外部トリガーカード(P/N 4600261)と組み合わせることにより、双方向通信によるHPLC制御やインテリジェントピーク積分が可能です。HPLC-ICP-MSのHPLCパラメータと分析条件を表1に示します。



表1 HPLC-ICP-MS測定条件

カラム	Dionex IonPac CS5A (250 x 2.0 mm, 5 μm)
注入量	20 μL
流量	0.7 mL/分
移動相(Gradient)	0.35 - 1.2 M HNO ₃
ネブライザー	ガラス同軸型
スプレーチャンバー	インパクトビード型
トーチ	石英一体型(1.5mmインジェクター)
インターフェース	Xt Ni インターフェース
RF出力	1400 W
ネブライザーガス流量	0.90 L/分
補助ガス流量	0.85 L/分
冷却ガス流量	14.5 L/分
データ取得モード	トランジェント時間分解分析(TRA)
同位体と積算時間	¹³ C, ⁵¹ V, ⁵³ Cr (10ms), ⁵² Cr (200ms)
AMU当たりのチャンネル	1
タイムスライス時間	263 ms
1回の測定時間	450 s

試料調製

セメント抽出物はドイツのTRGS 613(危険物質に関する技術規則)に従って調製しました。試料10.0gに水40mLを加え、振とう機を用いて300rpmで15分間混合しました。抽出物を3000rpmで20分間遠心分離した後、0.45 μmフィルタでろ過しました。試料を超純水で適宜希釈した後、分取して分析しました。

ステンレス鋼製造工場から採取した表面の(静的な)塵埃試料および大気粉塵を含むフィルタをISO 16740:2005に従って調製しました。この規格には職場の空気中Cr^{VI}の時間加重平均質量濃度を測定する方法が規定されており、可溶性および不溶性6価クロムの抽出については連続試料調製法が規定されています。表面塵埃試料およびフィルタ(テフロン)は、まず(NH₄)₂SO₄-NH₄OH緩衝液(0.5 M, pH 8)10 mLを用いて室温で1時間抽出し、上澄みを清浄な乾燥したバイアルに分取しました(可溶性抽出物)。続いて試料に2% NaOH-3% Na₂CO₃ 6 mLを加えて、超音波水槽中で1時間抽出し、上澄みを清浄な乾燥したバイアルに分取しました(不溶性抽出物)。抽出試料はすべて分析前に超純水で適宜希釈しました。CRM BCR-545(溶接塵)は、CRMに付属の認証報告書に示された方法に従って、フィルタを70℃に加温した超音波水槽の2% NaOH-3% Na₂CO₃緩衝液10 mL中に30分間浸出しました。試料を2500 rpmで2分間遠心分離し、分析前に超純水で希釈しました。

結果と考察

HPLCによりCr^{VI}とCr^{III}を分離することができ、保持時間はそれぞれ90秒と395秒でした(図1 (a.))。外部検量線はブランクと、0.5、1、2、10および25ng/gのCr^{VI}およびCr^{III}標準溶液を用いて、作成しました(図2)。試料のCr^{VI}とCr^{III}の定量は外部検量線とPlasmaLabの自動ピーク積分ツールを用いて行いました。本メソッドを評価するために、CRM BCR-545(溶接塵)の抽出試料を3回繰り返して分析しました。定量値を表2に示します。測定値とCr^{VI}の認証値(40.2 mg/g)はよく一致しています。

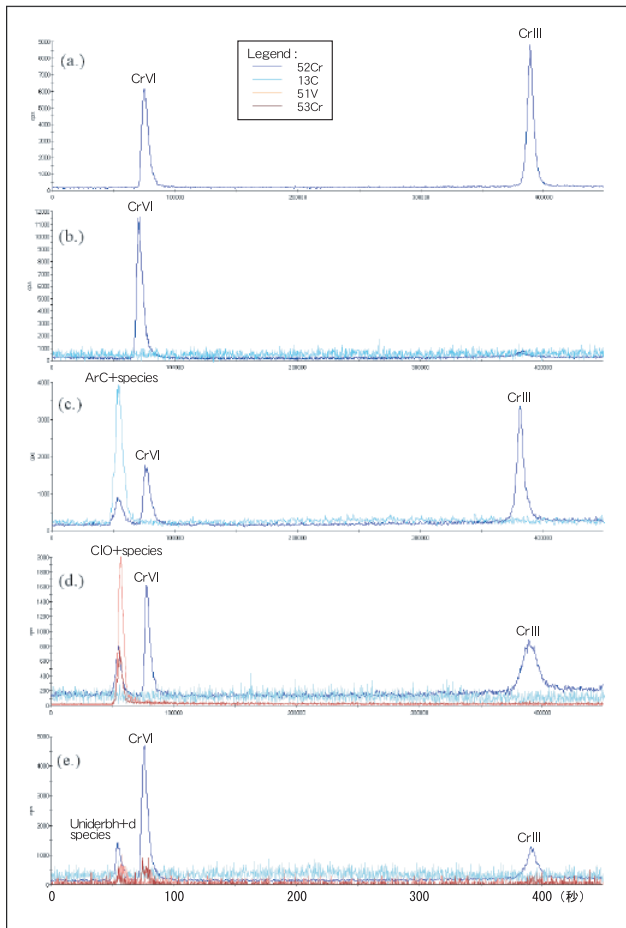


図1 m/z 52のHPLC-ICP-MSクロマトグラム:

- (a.) Cr^{III}とCr^{VI}標準液 (5ng/g)
- (b.) セメント抽出物 3 (200倍希釈)
- (c.) セメント抽出物 6 (未希釈) 還元剤のスルホン酸リグエンを含む
- (d.) 表面塵埃から抽出した可溶性Cr (2倍希釈)
- (e.) 表面塵埃から抽出した不溶性Cr (20倍希釈)

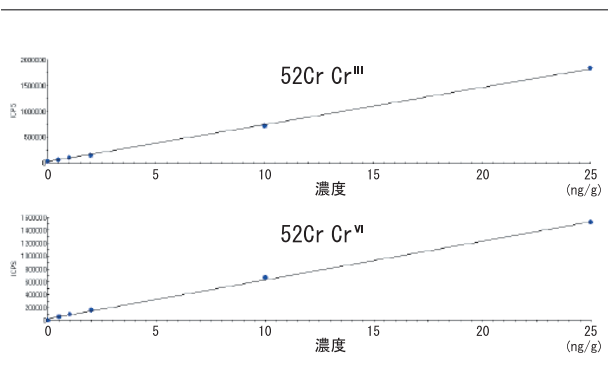


図2 Cr^{III}とCr^{VI}の検量線

クロムを含む分子種は、セメント抽出物の6試料で測定しました。図1 (b.)は還元剤を含まないセメント試料、図1 (c.)は還元剤としてスルホン酸リグエンを含むセメント試料のクロマトグラムです。ボイド容量で認められたピーク(52M⁺、図1 (c.))は⁵²ArC⁺の多原子イオンによるものであり、これは¹³Cで認められたピークとの同期によって確認されています。分析したセメント試料はすべてCr^{VI}を含んでいましたが、セメント試料5および試料6の還元剤については、水溶性Cr^{VI}の含有量は最大許容値の2 mg/kg未満でした。

表2 HPLC-ICP-MSによる定量結果

CRM	Cr ^{VI} g/kg	Cr ^{III} g/kg
BRC-545(溶接塵) n=3	39.8 ± 0.5	-
認証値	40.2 ± 0.6	-
セメント	Cr ^{VI} mg/kg	Cr ^{III} mg/kg
1	5.21	-
2	7.07	-
3	14.53	-
4	11.16	-
5	0.011	0.013
6	1.20	1.80
表面塵埃	Cr ^{VI} µg/kg	Cr ^{III} µg/kg
水溶性Cr ^{VI} 抽出物	70	13
不溶性Cr ^{VI} 抽出物	1544	156
フィルタ(添加回収率 100ng Cr ^{VI})	Cr ^{VI} ng	Cr ^{III} ng
フィルタ1 抽出前に添加	105	-
フィルタ2 抽出前に添加	90	-
フィルタ3 抽出中に添加	97	-

ISO 16740プロトコルに従って抽出した塵埃試料の可溶性および不溶性Crのクロマトグラムをそれぞれ図1 (d.)と図1 (e.)に示します。可溶性Cr抽出物ではボイド容量で⁵²M⁺ピークが認められましたが、⁵¹M⁺および⁵³M⁺に共存ピークも認められ、³⁵Clと³⁷Clの自然同位体比を示しています(すなわち、⁵¹ClO⁺と⁵³ClO⁺の多原子イオンとして存在しています)。その結果、⁵²M⁺のピークは⁵²ClO⁺の形成によるものと判断できます。また、不溶性Cr抽出物についてもボイド容量で⁵²M⁺のピークが確認されましたが、こちらは⁵²ArC⁺または⁵²ClO⁺によるものではありませんでした。このピークの由来を確認するにはさらに検討が必要です。

一連の添加回収試料を調製して、本メソッドをバリデートするとともに、フィルタのポリマー媒質との相互作用によってCr^{VI}からCr^{III}への還元あるいは抽出過程での還元がないことを確認しました。Cr^{VI} 100 ngを抽出過程でフィルタ抽出物に添加し、また抽出前に2つのフィルタに添加しました。添加回収結果を表2に示します。回収率は良好であり、本メソッドの正確性が確認されました。

Cr^{VI}およびCr^{III}種のメソッド検出限界MDLと定量下限LOQをメソッドブランク(n=5)の3σと10σから算出し、表3に示します。

表3 HPLC-ICP-MS法の検出限界性能

	Cr ^{VI} µg/kg	Cr ^{III} µg/kg
検出限界 (3σ)	0.10	0.64
定量下限 (10σ)	0.35	2.13

まとめ

Thermo Scientific HPLC-ICP-MSパッケージは、Cr^{VI}種およびCr^{III}種を迅速かつ正確に測定できるバリデート済みのソリューションを提供し、職業暴露の評価や作業環境のモニタリングに要求される性能を満たします。外部トリガーカードとPlasmaLabソフトウェアにより、クロムのルーチンのスペシエーション分析を自動操作し自動積分することができます。

EL09006

サーモフィッシャー
サイエンティフィック株式会社

フリーダイヤル
0120-753-670

FAX
0120-753-671

E-mail
info-jp@thermofisher.com

www.thermoscientific.jp
(日本)
www.thermo.com
(グローバル)

©2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

Specification, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.

Thermo
SCIENTIFIC