

Application News

No. M281B

GC/MS

GC-MS を用いた工場排水中のアルキル水銀 (II) 化合物の定量

高い毒性を有するアルキル水銀化合物は、脂溶性のため生物濃縮を受けやすく、これらが人体に高濃度で摂取されることにより、中枢神経障害を引き起こされます。アルキル水銀化合物の一種であるメチル水銀は、工場から海水に排出された後、食物連鎖により魚介類に蓄積され、高濃度で人体に摂取されたことで水俣病の原因となりました。また、エチル水銀についても同等の毒性を有することが知られているため、メチル水銀とエチル水銀の総和としてアルキル水銀化合物が排水基準に設定されています。

“JIS K 0102 工場排水試験方法”が 2019 年 3 月 20 日に改正され、66. 2 アルキル水銀 (II) 化合物の試験方法に“ガスクロマトグラフィー質量分析法”が追加されました。従来のガスクロマトグラフ法の定量範囲は、0.5 $\mu\text{g}(\text{Hg})/\text{L}$ 以上、GC/MS 法は、0.2~10 $\mu\text{g}(\text{Hg})/\text{L}$ と記載されています。

当該方法では、これらアルキル水銀 (II) 化合物をテトラフェニルほう酸ナトリウムによって誘導体化 (フェニル化) 後、トルエンで抽出を行うため、工場排水中のアルキル水銀 (II) 化合物を高感度かつ選択的に定量することができます。

本報では、追加された GC/MS 法に従い、また、参考文献を参考にして工場排水中のメチル水銀およびエチル水銀の分析について検討を行いました。

T. Kondo

■ 試標準液の調製

塩化メチル水銀標準液 (Hg 1000 mg/L) は、塩化メチル水銀 (II) 標準品 (Cat. No. 26803-97, 関東化学) 0.0125 g を全量フラスコ 10 mL にとり、メタノールで溶解して調製しました。塩化エチル水銀標準液 (Hg 1000 mg/L) は、塩化エチル水銀 (II) 標準品 (Cat. No. 14627-97, 関東化学) 0.0132 g を全量フラスコ 10 mL にとり、メタノールで溶解して調製しました。塩化メチル水銀および塩化エチル水銀混合標準液 (Hg 10 mg/L) は、塩化メチル水銀標準液 (Hg 1000 mg/L) および塩化エチル水銀標準液 (Hg 1000 mg/L) をメタノールで 100 倍希釈して調製しました。同様に、塩化メチル水銀および塩化エチル水銀混合標準液 (Hg 1 mg/L) は、塩化メチル水銀および塩化エチル水銀混合標準液 (Hg 10 mg/L) をメタノールで 10 倍希釈して調製しました。また、2,4,6-トリクロロアニソール-d3 内標準液 (40 mg/L) は、2,4,6-トリクロロアニソール-d3 標準液 (1 mg/ml メタノール溶液、Cat. No. 206-19011, 富士フィルム和光純薬) をメタノールで 25 倍に希釈して調製しました。

■ 分析条件

図 1 に測定に使用した GCMS-QP™2020 NX の外観を示します。表 1 に装置システムおよび GC-MS の分析条件を示します。



図 1 GCMS-QP™2020 NX

表 1 装置システムおよび GC-MS の分析条件

GC-MS	: GCMS-QP2020 NX
分析カラム	: SH-I-1MS (30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 μm) ^{*)}
ガラスインサート	: Topaz ライナー、コード No. 23336 シングルグースネックライナー、ウール付
GC	
気化室温度	: 280 °C
注入モード	: スプリットレス
サンプリング時間	: 1 min
キャリアガス	: ヘリウム
制御モード	: 線速度一定 (40 cm/s)
高圧注入	: 250 kPa (1.5 min)
カラムオープン温度プログラム	: 90 °C (1 min) → (8 °C/min) → 220 °C → (30 °C/min) → 280 °C (3 min)
試料注入量	: 1 μL
MS	
イオン化法	: EI 法
イオン源温度	: 230 °C
インターフェイス温度	: 280 °C
測定モード	: スキャン
イベント時間	: 0.3 秒
質量範囲 (m/z)	: 35–400
測定モード	: SIM
イベント時間	: 0.3 秒
モニターイオン (m/z)	: フェニルメチル水銀 / 294, 292 フェニルエチル水銀 / 308, 306 2,4,6-トリクロロアニソール-d3 / 215, 213

*1 P/N : 221-75923-30

■ 分析操作

検量線作成用標準試料には、ブランク水に塩化メチル水銀および塩化エチル水銀混合標準液 (Hg 10 mg/L) または塩化メチル水銀および塩化エチル水銀混合標準液 (Hg 1 mg/L) を、メチル水銀およびエチル水銀のそれぞれの濃度が 0.2、0.5、1、2、5、10 $\mu\text{g}(\text{Hg})/\text{L}$ となるよう添加したものを用いました。これらの溶液 100 mL に、酢酸緩衝液 5 mL および 2,4,6-トリクロロアニソール-d3 内標準液 (40 mg/L) 5 μL を加え、pH5.0 \pm 0.1 に調整後、テトラフェニルほう酸ナトリウム溶液 (20 g/L) 1 mL を加えフェニル化するとともに 5 mL のトルエンで抽出しました。トルエン層を脱水後、PEG300 溶液 (100 g/L) を加え、分析試料としました。工場排水についても同様に処理を行いました (図 2)。

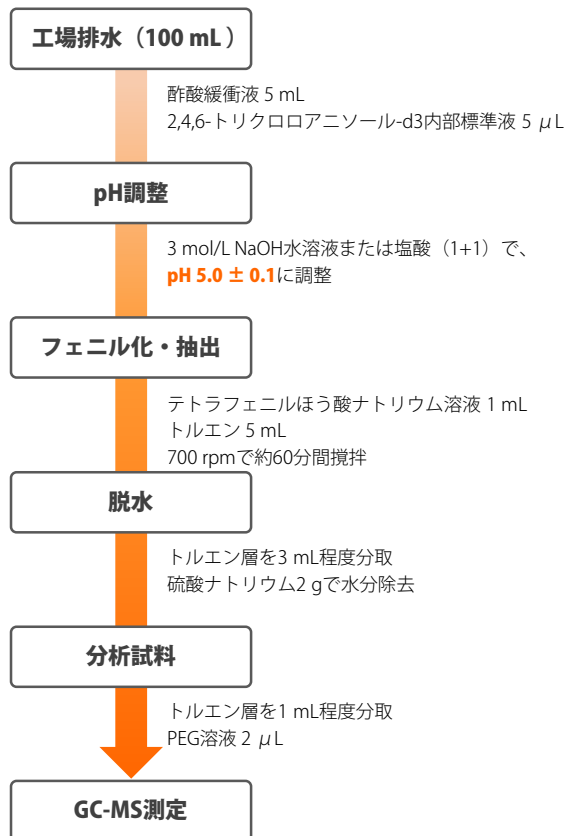


図 2 工場排水の分析操作フロー

■ 標準試料の分析

図 4 に、10 $\mu\text{g}(\text{Hg})/\text{L}$ 標準試料のスキャンモード測定によるトータルイオンカレントクロマトグラム (TIC クロマトグラム) を示します。フェニルメチル水銀およびフェニルエチル水銀、2,4,6-トリクロロアニソール-d3 のピークが検出されました。その他、誘導体化に伴うピークやポリエチレングリコールなどのピークが多数検出されますが、ターゲット化合物および内標準物質のピークとクロマトグラフィーで分離されていることが確認できました。図 5 にフェニルメチル水銀、フェニルエチル水銀および 2,4,6-トリクロロアニソール-d3 のマススペクトルを示します。

pH 測定に伴う汚染を避けるため、pH 電極は溶液に浸さないことになっています。本分析では、pH5.0 \pm 0.1 に調整する際の 3 mol/L NaOH 水溶液または塩酸 (1+1) の添加量を確認するために、各工場排水サンプルを別途 100 mL 採取し、酢酸緩衝液 5 mL を加えたものを用いました。求めた添加量と同量と同じ種類の工場排水サンプルに添加しました。フェニル化およびトルエン抽出は、回転速度が設定できる 6 連式のマグネチックスターラーを使用しました。追加された試験法に抽出時の回転速度の記載が無いため、今回は十分に攪拌できるように 700 rpm に設定しました (図 3)。抽出後、水を緩やかに加えトルエン層を細口部まで上昇させますが、これはトルエン層を分取しやすくするために行う操作です。この操作を行うことで、抽出されたメチル水銀およびエチル水銀が再び水層に逆抽出され回収率が低下することはありませんでした。

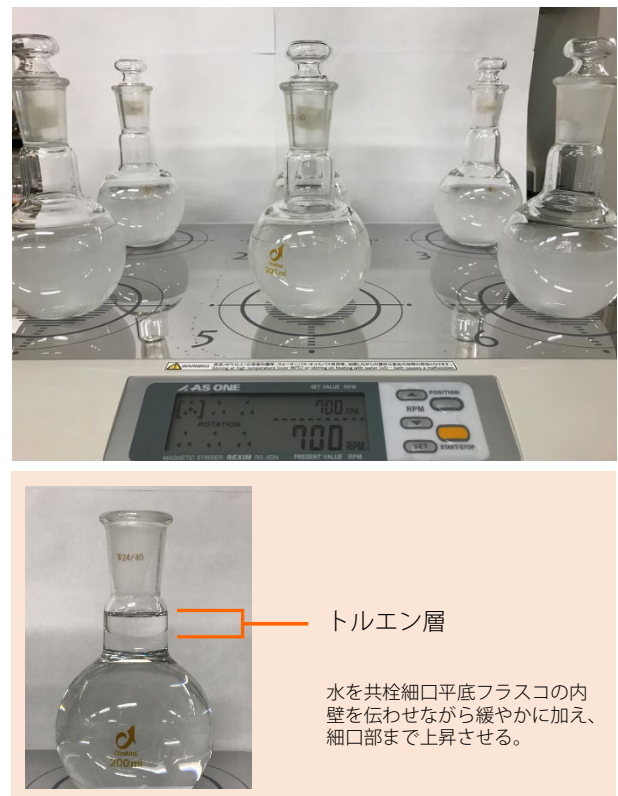


図 3 抽出操作の様子

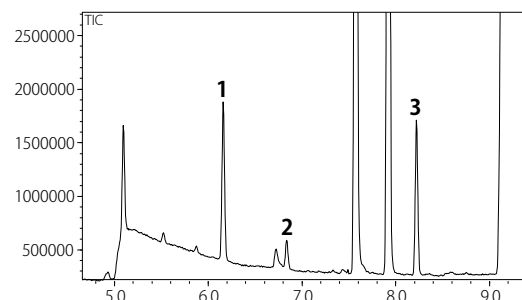


図 4 標準試料 (10 $\mu\text{g}(\text{Hg})/\text{L}$) の TIC クロマトグラム
1: フェニルメチル水銀、
2: 2,4,6-トリクロロアニソール-d3 (2 $\mu\text{g}/\text{L}$)、
3: フェニルエチル水銀

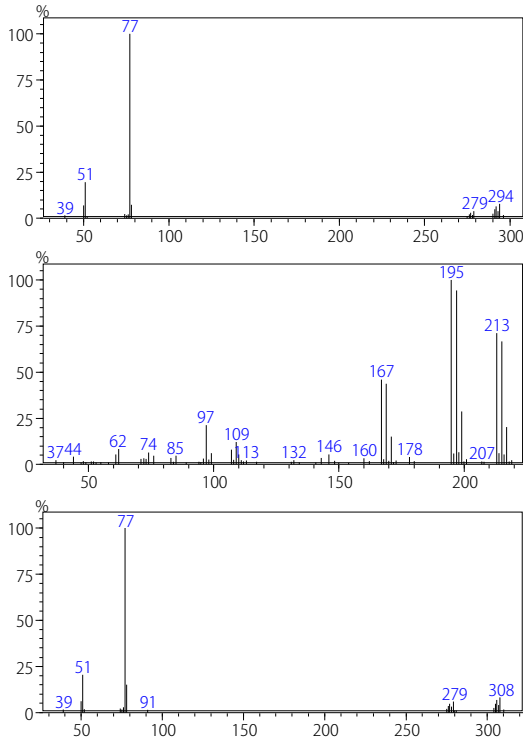


図5 フェニルメチル水銀 (上)、2,4,6-トリクロロアニソール-d3 (中)、フェニルエチル水銀 (下) のマススペクトル

試験法の「アルキル水銀 (II) 化合物及び内標準物質の定量イオン及び確認イオンの一例」を参考に、選択性 (実試料で妨害を受けないこと) を優先して表 1 に示すイオン (m/z) を定量イオンと確認イオンに設定しました。

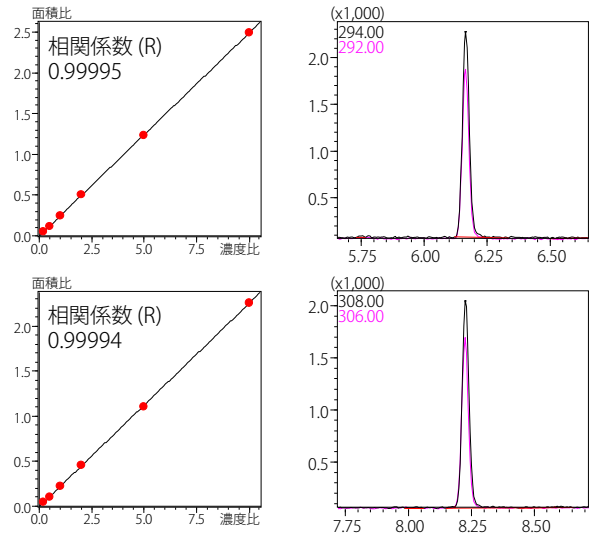


図6 検量線および 0.2 $\mu\text{g(Hg)/L}$ 標準試料の SIM クロマトグラム
上: メチル水銀、下: エチル水銀

次に、SIM モード測定による、メチル水銀およびエチル水銀の検量線および 0.2 $\mu\text{g(Hg)/L}$ 標準試料の SIM クロマトグラムを示します (図 6)。JIS K 0102 GC/MS 法に記載されている濃度範囲において、メチル水銀およびエチル水銀のそれぞれの検量線の相関係数 (R) は 0.9999 以上となり、良好な直線性が得られました。

0.2 $\mu\text{g(Hg)/L}$ 標準試料について、同一バイアルから 5 回測定した繰り返し分析の結果を表 2 に示します。相対標準偏差 (% RSD) が 1% 程度と良好な結果が得られました。

表 2 0.2 $\mu\text{g(Hg)/L}$ 標準試料の繰り返し分析結果

化合物名	データ 1	データ 2	データ 3	データ 4	データ 5	平均	標準偏差	% RSD
メチル水銀	0.201	0.204	0.204	0.204	0.206	0.204	0.002	0.88
エチル水銀	0.204	0.208	0.209	0.207	0.206	0.207	0.002	0.93

工場排水の分析

2 種類の有機系工場排水 (原水および処理水) を測定した結果、メチル水銀およびエチル水銀は検出されませんでした。

それぞれの SIM クロマトグラムを図 7 に示します。

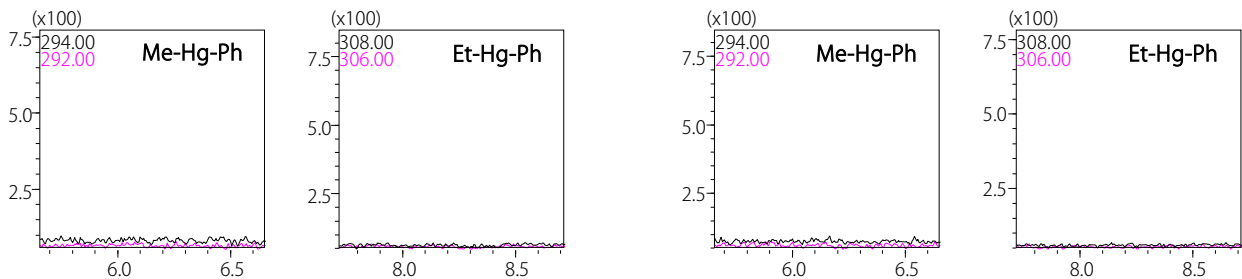


図7 2 種類の有機系工場排水の SIM クロマトグラム
左: 原水、右: 処理水

次に、2種類の工場排水に0.2 μg(Hg)/Lまたは2 μg(Hg)/Lとなるように塩化メチル水銀および塩化エチル水銀混合標準液を添加した標準添加工場排水をそれぞれ3試料ずつ調製し、分析操作を行いました。抽出後にトルエン層がエマルジョンになった試料については、エマルジョンごと3000 rpm

で10分間、遠心分離を行い、トルエン層を分離し、以降の操作を行いました。それらのSIMクロマトグラムを図8に、定量結果を表3に示します。標準試料添加工場排水の回収率は、92.2~104.3%の範囲でした。また、再現性については、%RSDが1.5~3.2%の範囲でした。

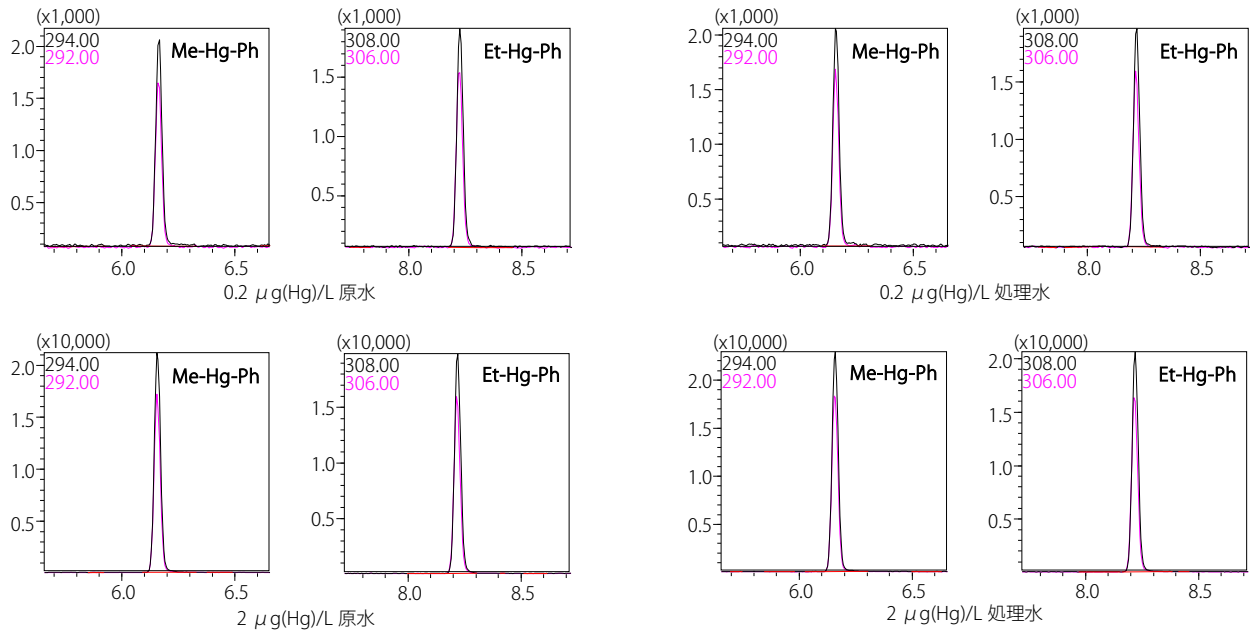


図8 標準添加工場排水のSIMクロマトグラム
上：0.2 μg(Hg)/L、下：2 μg(Hg)/L

表3 標準添加工場排水の定量結果

試料名	化合物名	試料 1	試料 2	試料 3	平均	% RSD	回収率 (%)
0.2 μg(Hg)/L 原水	メチル水銀	0.186	0.188	0.179	0.184	2.6	92.2
	エチル水銀	0.191	0.196	0.188	0.192	2.1	95.8
0.2 μg(Hg)/L 処理水	メチル水銀	0.194	0.207	0.201	0.201	3.2	100.3
	エチル水銀	0.206	0.212	0.208	0.209	1.5	104.3
2 μg(Hg)/L 原水	メチル水銀	1.87	1.96	1.89	1.91	2.6	95.3
	エチル水銀	1.92	2.01	1.95	1.96	2.5	97.9
2 μg(Hg)/L 処理水	メチル水銀	2.09	1.97	2.08	2.05	3.2	102.4
	エチル水銀	2.09	1.99	2.12	2.07	3.2	103.4

結論

JIS K 0102 に追加されたGC/MS法に従って、工場排水サンプル中のメチル水銀及びエチル水銀の定量を行いました。検量線の直線性、標準添加工場排水の回収率および再現性において良好な結果が得られました。これにより本法が工場排水中のアルキル水銀(II)化合物の定量に有用であることが示されました。

謝辞

本試験の工場排水は、株式会社環境管理センター 杉江昌 様にご提供いただきました。

参考文献

Shigeta, K.; Tao, H.; Nakagawa, K.; Kondo, T.; Nakazato, T., A Simple and Robust Method for Determination of Alkylmercury in Seawater and Industrial Wastewater by Phenylation Pretreatment Combined with GC-MS. Anal. Sci. 2018, 34 (2), 227-233.

GCMS-QPは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
<https://www.an.shimadzu.co.jp/>

初版発行：2019年8月
A改訂版発行：2020年3月
B改訂版発行：2023年3月
島津コールセンター ☎ 0120-131691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。