

## 分析化学総説

クロマトグラフィー/誘導結合プラズマ質量分析法による  
微量元素のスペシエーション

田尾 博明\*

Trace elemental speciation by chromatography/inductively  
coupled plasma mass spectrometry (Review)

Hiroaki TAO\*

\*National Institute for Resources and Environment, 16-3, Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305

(Received 11 November 1996)

The recent development and future prospects of trace elemental speciation by the on-line coupling of inductively coupled plasma mass spectrometry to separation methods, such as liquid chromatography, gas chromatography, supercritical fluid chromatography, and capillary electrophoresis, are discussed. The extraction and derivatization methods of organometallic compounds in environmental and biological samples are also critically reviewed.

**Keywords** : speciation; LC/ICP-MS; GC/ICP-MS; SFC/ICP-MS; CE/ICP-MS; hyphenated method.

## 1 はじめに

誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) は 1980 年に Houk らにより開発されて以来<sup>1)</sup>, 主に溶液試料の高感度分析法として発展してきた。ICP-MS には高感度性以外にも, 多元素同時測定や同位体分析が可能である等の特長があるが, 元素の化学種に関する情報 ( $\text{Cr}^{3+}$  と  $\text{Cr}^{6+}$  のような酸化数の差や,  $\text{Hg}^{2+}$  と  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  のような有機置換基の有無) は失われてしまう。これは高温のプラズマ中で化合物が分解・原子化され, 最終的に一価イオンとして検出されるためである。一方, 元素は化学種により毒性や環境挙動が異なるため, 毒性学や環境科学の分野では, 化学種別の分析 (エレメンタルスペシエーション) の重要性が指摘されている。このため, 液体クロマトグラフィー (LC) やガスクロマトグラフ

フィー (GC) などのクロマトグラフィーと ICP-MS を結合した hyphenated method が研究されている。分離法としては, LC, GC のほかに超臨界流体クロマトグラフィー (SFC), キャピラリー電気泳動法 (CE) が検討されている。hyphenated method の成否は, 分離法と ICP-MS を結合するためのインターフェースや試料導入法の開発にかかっており, この点が重要な研究要素となっている。従来より検討されてきたクロマトグラフィー/ICP 発光分光法 (ICP-AES) と比べると, 検出限界が 3 けた以上低くなり, はじめて実際の生体や環境濃度レベルの測定が可能となった。このため, 本総説では実試料の分析に重点を置き, 又これまでの総説 (Table 1) との重複を避けるため, 重要な文献を除いては 1990 年以降のものを中心にまとめた。なお, スペシエーションの定義には, 分析操作に基づく分画分析 (例えば, 土壌の酸可溶成分や有機態結合成分などの分析) を意味する場合もあるが, ここでは分子構造の差に基づ

\* 工業技術院資源環境技術総合研究所: 305 茨城県つくば市小野川 16-3

Table 1 Reviews of trace elemental speciation by atomic spectrometry

Period	Subject	Number of papers	Ref.
1965~mid-1980s	Coupling of GC to ICP-AES, DCP-AES, MIP-AES, AAS, AFS	166	2
1971~mid-1980s	Coupling of LC to ICP-AES, DCP-AES, AAS, AFS, ETAAS (mainly AAS)	100	3
mid-1980s~1992	LC/ICP-AES, LC/ICP-MS, GC/ICP-AES, GC/ICP-MS	127	4
mid-1980s~1992	LC/ICP-MS, SFC/ICP-MS	35	5
1979~1991	Organometallic compounds in the environment	37	6
1981~1992	Application of GC/MIP-AES to environmental and biological samples	28	7
1992~1994	Trace elements with different oxidation states in seawater	59	8
1986~1992	LC/ICP-MS, GC/MIP-MS, SFC/ICP-MS	40	9

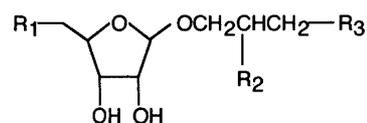
いて個々の化学種を分析する意味に用いる。

## 2 液体クロマトグラフィー/誘導結合プラズマ質量分析法 (LC/ICP-MS)

LC は ICP-MS と最も容易に結合できる。すなわち、LC の移動相流量と ICP-MS の試料導入量がほぼ等しいため、LC のカラムと ICP-MS のネブライザーをテフロンチューブで接続するだけでよい。但し、移動相の有機溶媒濃度が高いと、ICP が不安定となったり、温度が下がって感度が低下する。又、サンプラーコーンに炭素が析出して穴径が小さくなるため感度が低下し、極端な場合には穴がふさがれてしまう。同様に塩濃度が高いと、スペースチャージ効果等のため感度が低下したり (200 mM の  $\text{Na}^+$  存在下で感度が約 40% に低下<sup>10)</sup>), 不揮発性化合物がサンプラーコーンに析出する。これらの問題点を解決するためには、移動相の有機溶媒や塩濃度を可能な限り低く抑えることや、低温のスプレーチャンパーや膜を用いた脱溶媒システムにより ICP に導入される有機溶媒の蒸気量を少なくすること<sup>11)</sup>、移動相の塩を  $\text{Na}^+$  形から  $\text{NH}_4^+$  形に替えることなどが行われている<sup>12)13)</sup>。試料導入法としてはニューマティックネブライザーが通常用いられるが、噴霧された溶液のうち 1~3% しか ICP に導入されないため、高感度化が必要な場合には、超音波ネブライザーやダイレクトインジェクションネブライザー (DIN) が用いられている。DIN は試料の導入効率が 100% で、デッドボリュームも 2  $\mu\text{l}$  と小さいため、LC の分離能を損なわずに ICP-MS と結合できる理想的な試料導入法である。しかし、DIN は調整が微妙で安定性に乏しいことや、最適流量が 30~100  $\mu\text{l min}^{-1}$  と小さいためマイクロ LC との結合が不可欠なことからいまだ普及していない。LC との結合において、金属の汚染を避けるためには遊離金属の LC ポンプが必要である。

(As<sup>III</sup>)  $\text{AsO}_3^{3-}$ , (As<sup>V</sup>)  $\text{AsO}_4^{3-}$ , (MMA)  $\text{CH}_3\text{AsO}_3^{2-}$ , (DMA)  $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2^-$ , (TMAO)  $(\text{CH}_3)_3\text{AsO}$ , (TMAs)  $(\text{CH}_3)_4\text{As}^+$ , (AsC)  $(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , (AsB)  $(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$ , (DMAE)  $(\text{CH}_3)_2\text{As}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,

(arsenosugars)



R1	R2	R3
$(\text{CH}_3)_2\text{As}(\text{O})-$	-OH	-OH
$(\text{CH}_3)_2\text{As}(\text{O})-$	-OH	$-\text{OP}(\text{O})_2\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$
$(\text{CH}_3)_2\text{As}(\text{O})-$	-OH	$-\text{SO}_3^-$
$(\text{CH}_3)_2\text{As}(\text{O})-$	$-\text{NH}_3^+$	$-\text{SO}_3^-$
$(\text{CH}_3)_2\text{As}(\text{O})-$	-OH	$-\text{SO}_4^-$
$(\text{CH}_3)\text{As}^+$	-OH	$-\text{SO}_4^-$

Fig. 1 Structure of arsenic species

### 2.1 ヒ素化合物

LC/ICP-MS による As のスペシエーションを Table 2 にまとめた。表の化学種の欄は溶出順に並べてある。括弧の中の化学種は一つのピークとして出現し、相互の分離はできない。水中で観測されるヒ素化合物は主に arsenite ( $\text{As}^{\text{III}}$ ) と arsenate ( $\text{As}^{\text{V}}$ ) であるが、海洋生物試料にはこのほかに monomethylarsonate (MMA), dimethylarsinate (DMA), arsenobetaine (AsB), arsenocholine (AsC), dimethylarsinoylriboside derivatives (arsenosugars) 等の有機ヒ素化合物が含まれている (Fig. 1)。ヒ素化合物の毒性は  $\text{As}^{\text{III}}$ ,  $\text{As}^{\text{V}}$ , MMA, DMA の順に弱くなり、 $\text{LD}_{50}$  (rat) で各々 1.5, 5, 50, 500  $\text{mg kg}^{-1}$  で、AsB や AsC, arsenosugars は毒性がほとんどないと言われている<sup>5)</sup>。

LC としては、初期のころには主にイオン対逆相クロ

Table 2 Arsenic speciation by LC/ICP-MS

Element	Species	LC mode	Sample introduction	Detection limit	Sample	Comments	Ref. (year)
As	As <sup>III</sup> , MMA, DMA, As <sup>V</sup>	IP	UN (desolvation at 0°C)	100 pg		first paper on LC/ICP-MS	41 (1986)
	(As <sup>III</sup> , MMA, As <sup>V</sup> ), DMA, AsB	IP (cation pairing)	PN	—	NRCC DORM-1 dogfish muscle	spreading of the AsB peak	14 (1988)
	As <sup>III</sup> , DMA, MMA, As <sup>V</sup>	IE (anion exchange)	PN	—		compared with anion pairing, anion exchange was inferior in resolution but was less susceptible to matrix interference	15 (1989)
	(As <sup>III</sup> , MMA, As <sup>V</sup> ), DMA, AsB	IP (cation pairing)	ibid.	30~300 pg	NRCC DORM-1		ibid.
	As <sup>III</sup> , DMA, MMA, As <sup>V</sup>	IE (weak anion exchange)	PN	20~91 pg	urine	spectral interference from ArCl with As <sup>III</sup>	12 (1989)
	As <sup>III</sup> , As <sup>V</sup> , MMA, DMA, TMAO, TMA, AsB, AsC, DMAE, Arsenosugars (not in order)	IP (anion pairing), IP (cation pairing), SE	PN	20~50 pg(IP) 100~150 pg(SE)	urine	identification of 15 species using three different LC modes	13 (1989)
	ibid.	ibid.	ibid.	—	NRCC DORM-1 NRCC DOLT-1 dogfish liver	ibid.	16 (1989)
	DMA, As <sup>III</sup> , MMA, As <sup>V</sup>	IE (anion exchange)	PN	300~700 pg			17 (1992)
	AsB, AsC, TMA	IE (cation exchange)	ibid.	100~200 pg			ibid.
	As <sup>III</sup> , DMA, MMA, As <sup>V</sup>	IP (anion pairing)	DIN	500~600 fg		micro-scale LC	18 (1992)
	DMA, As <sup>III</sup> , MMA, As <sup>V</sup>	IE (anion exchange)	PN	160~260 pg	urine	4-fold dilution of urine with water to prevent oxidation of As <sup>III</sup> . ArCl interference was eliminated by chromatographic separation	19 (1993)
	AsB, TMAO, AsC, TMA	IE (cation exchange)	ibid.	33~75 pg	ibid.		ibid.
	DMA, As <sup>III</sup> , MMA, As <sup>V</sup>	IE (anion exchange)	PN	80~150 pg	fish, shellfish, crustaceans		20 (1993)

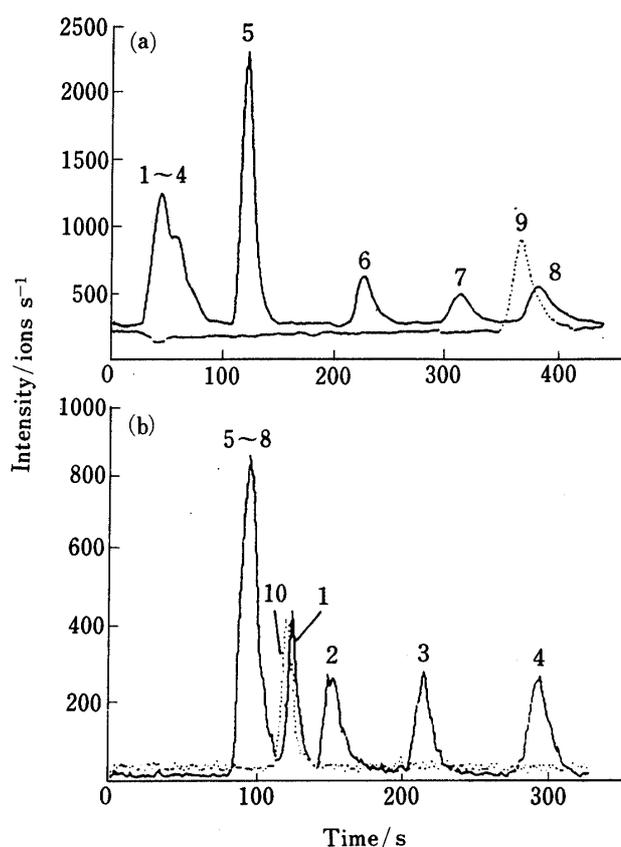
As <sup>B</sup> , TMAO, AsC, TMA <sub>s</sub> , (DMAE, GPAC)	IE (cation exchange)	ibid.	31~51 pg	ibid.	two unknown peaks	ibid.
As <sup>B</sup> , DMA, As <sup>III</sup> , MMA, As <sup>V</sup>	IE (anion exchange)	PN	—	fish	N <sub>2</sub> was added to the injector gas to overcome interference from ArCl	21 (1994)
4-hydroxy-3-nitrophenylar- sonic acid (roxarsone)	RP	PN	25 ng g <sup>-1</sup> in chicken tissue	chicken tissue		22 (1994)
(As <sup>III</sup> , As <sup>V</sup> , MMA, DMA), TMAO, AsB, AsC, TMA <sub>s</sub>	IE (cation exchange)	PN	4.7 ng g <sup>-1</sup> in shrimp	shrimp	sensitivity was enhanced by the addition of methanol	10 (1994)
AsB, DMA, As <sup>V</sup>	Micellar	PN	—	NRCC DORM-1		23 (1994)
As <sup>III</sup> , DMA, MMA, As <sup>V</sup>	IP	<i>in situ</i> nebulizer-HG	2.2~10 pg	NRCC SLRS-2 riverine water spring water underground water	on-line, prereduction of As <sup>V</sup> to As <sup>III</sup> by L-cysteine. sam- ple solution, mixed with NaBH <sub>4</sub> , was delivered to the pneumatic nebulizer	24 (1994)
AsC, AsB, As <sup>III</sup> , DMA, MMA, As <sup>V</sup>	IP	PN	45~150 pg	As <sup>V</sup> in spring wa- ter, bottled mine- ral water		25 (1995)
As <sup>III</sup> , p-ASA, 4-OH, 3-NHPAA, 4-NPAA	RP	PN (high- efficiency)	—		micro-scale LC	26 (1995)
As <sup>III</sup> , DMA, MMA, As <sup>V</sup> , p-ASA	IP	ibid.	0.4~1.2 pg		ibid.	ibid.
As <sup>III</sup> , AsB, MMA, DMA, As <sup>V</sup>	IE (weak anion ex- change)	PN	—	urine		27 (1996)
As <sup>III</sup> , DMA, MMA, As <sup>V</sup>	IE (anion exchange)	HG	0.6~3.1 pg	NRCC NASS-4 open ocean water SLEW-2 estuarine water	interference from Cl <sup>-</sup> in seawater was eliminated by HG.	28 (1996)

IP: ion pairing reverse phase; IE: ion exchange; RP: reverse phase; SE: size exclusion; UN: ultrasonic nebulizer; PN: pneumatic nebulizer; DIN: direct in-  
jection nebulizer; HG: hydride generation.

As<sup>III</sup>: arsenite(arsenious acid); As<sup>V</sup>: arsenate; MMA: monomethylarsonate(monomethylarsonic acid); DMA: dimethylarsonate(dimethylarsonic acid, cacody-  
late); AsB: arsenobetaine; AsC: arsenocholine; TMA<sub>s</sub>: tetramethylarsonium ion; TMAO: trimethylarsonic oxide; DMAE: 2-dimethylarsinyethanol; GPAC:  
glycerylphosphorylarsonocholine; p-ASA: *p*-arsanilic acid; 3-NHPAA: 3-nitro-4-hydroxyphenylarsonic acid; 4-NPAA: 4-nitrophenylarsonic acid; 4-OH: 4-hy-  
droxyphenylarsonic acid

マトグラフィーが用いられた。Beauchemin らは、ODS カラムを固定相とし、イオン対試薬として 10 mM ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を含む移動相 (5% メタノールと 2.5% 氷酢酸) を用いて DMA と AsB を分離した<sup>14)</sup>。AsB は二つのピークに分裂したが、これは試料中の共存イオンが SDS と競合してイオン対を形成したためと考えられる。Beauchemin らはその後、イオン対逆相クロマトグラフィーとイオン交換クロマトグラフィーを比較して、陰イオン対逆相クロマトグラフィーは陰イオン交換クロマトグラフィーに比べて、分離能は高いが共存物質の干渉を受けやすく、実試料に適用するのは困難であること、一方、陽イオン対逆相クロマトグラフィーは干渉が少なく実試料にも適用できることを報告している<sup>15)</sup>。一方、柴田らは陰イオン対逆相クロマトグラフィーと陽イオン対逆相クロマトグラフィー及びサイズ排除クロマトグラフィーの 3 種類を併用することにより、15 種類のヒ素化合物を分離同定している<sup>13)16)</sup>。この論文は arsenosugars の分離が検討されている貴重な例である。

最近 LC としては、主にイオン交換クロマトグラフィーが用いられている。Table 3 に示した  $pK_a$  から分かるように、中性領域では  $As^V$ , MMA, DMA は陰イオン,  $As^{III}$  は中性, AsB, AsC, TMAs (tetramethylarsonium ion) は陽イオンとして存在しているため、陰イオン交換カラムを用いれば  $As^{III}$ ,  $As^V$ , MMA, DMA が分離でき、陽イオン交換カラムを用いれば AsB, AsC, TMAs 等が分離できる。Larsen らは、第四級アンモニウムイオンを有するポリスチレン-ジビニルベンゼン系の陰イオン交換カラムと、 $NH_4OH$  で pH 10.3 に調整した 100 mM  $NH_4HCO_3$  を用いて DMA,  $As^{III}$ , MMA,  $As^V$  を分離する一方、スルホン基を有するシリカ系の陽イオン交換カラムと、 $HCOOH$  で pH 2.65 に調整した 20 mM ピリジンを用いて AsB, TMAO (trimethylarsine oxide), AsC, TMAs を分離した<sup>20)</sup> (Fig. 2)。図中の  $Sb(OH)_6^-$  と  $(CH_3)_3Se^+$  は各々陰イオン分析時、陽イオン分析時の内標準物質である。この論文では、ピリジン濃度を以前の 100 mM<sup>17)19)</sup> から 20 mM に下げることにより未知化合物を 2 個見いだしている。海洋生物中でのヒ素化合物の代謝経路を解明するためには、これらの未知化合物やあまり研究が進んでいない arsenosugars や arsenolipids の分析が重要と考えられる。残念ながらスタンダードが合成されていない化学種に対しては LC/ICP-MS は限界があり、LC/MS や CE/MS などのフラグメントから分子構造を推定できる方法との併用が不可欠である。



**Fig. 2** Chromatograms from (a) cation-exchange and (b) anion-exchange LC/ICP-MS of eight arsenic standards and two internal standards

Peak identification: 1, DMA; 2,  $As^{III}$ ; 3, MMA; 4,  $As^V$ ; 5, AsB; 6, TMAO; 7, AsC; 8, TMAs (solid line); 9, TMsSe; and 10,  $Sb(OH)_6^-$  (broken line). The amount injected (as the respective salts) were 0.83 ng of 1-4, 0.44 ng of 5, 0.088 ng of 6-8, 1.7 ng of 9 and 0.079 ng of 10. Reproduced by permission of the Royal Society of Chemistry, from ref. 20.

Larsen らは、移動相にメタノール等の有機溶媒が適量 (3%) 存在すると、通常の Ar ICP では十分イオン化されない元素、すなわちイオン化エネルギーが 9 eV 以上の元素の感度が 3-4 倍向上することを利用して、エビの低濃度の AsC を分析した<sup>10)</sup>。これはプラズマ中で  $C^+$  (11.26 eV) から As (9.82), Se (9.75), I (10.45), Hg (10.44 eV) への電荷移動が起こるためで、イオン化エネルギーがわずかに高い Br (11.81 eV) の感度は変わらないことも、このメカニズムの傍証となっている。この論文では化学種により ICP-MS の感度が異なることが報告されており (Table 4), その原因としては ICP での分解・原子化・イオン化過程に差があるためと推論

Table 3  $pK_a$  values and formulae of arsenic species<sup>29)</sup>

Species	Formula	$pK_a$ value
As <sup>III</sup>	HAsO <sub>2</sub>	9.08
	As(OH) <sub>3</sub>	9.1, 12.1, 13.4
As <sup>V</sup>	AsO(OH) <sub>3</sub>	2.24, 6.96, 11.5
MMA	CH <sub>3</sub> AsO(OH) <sub>2</sub>	2.6 <sup>30)</sup> *, 8.2 <sup>30)</sup>
DMA	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> AsO(OH)	6.3 <sup>30)</sup> **
		3.85 <sup>31)</sup> *** (protonated at this pH)
AsB	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> As <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	2.18 <sup>17)</sup>

$pK_a$  values of 3.6(\*), 6.2(\*\*), and 1.28(\*\*\*\*) were also reported<sup>17)</sup>.

Table 4 ICP-MS signal intensities for aqueous standard solutions of arsenic (1 ng ml<sup>-1</sup> of As) after conventional aspiration of eight arsenic species

Species	Intensity/counts s <sup>-1</sup>	Relative, % to As <sup>III</sup>
A <sup>III</sup>	1664 ± 24	100
As <sup>V</sup>	1545 ± 19	93
MMA	1462 ± 9	88
DMA	1434 ± 28	86
TMAO	1294 ± 19	78
AsB	1354 ± 21	81
AsC	1303 ± 25	78
TMA <sub>s</sub>	1116 ± 17	67

Reproduced by permission of the Royal Society of Chemistry, from ref. 10.

されている。この推論が正しければ、スペシエーションだけでなく通常の全分析でも標準溶液中の化学種と試料中の化学種が一致しない場合には正確な定量ができないことになる。化学種ごとに感度が異なった原因としては、標準溶液調製時の試薬が分解していた可能性もあるが、原子吸光法では等しい感度が得られていることや<sup>17)</sup>、ICP-MSのキャリアーガス流量の影響やメタノールによる増感効果が化学種ごとに異なることから、化学種間で感度に差がある可能性が高いように思われる。As以外にHgでも化学種ごとに感度が異なるという報告<sup>32)33)</sup>がある一方、ほぼ同じという報告<sup>18)</sup>もある。いずれにせよ化学種による感度の差は慎重に再検討しなければならない重要な問題である。

固体試料のスペシエーションでは、化学種を変化させずに抽出することが重要である。抽出法としてはクロロホルム-メタノール-水抽出系<sup>14)20)21)</sup>やメタノール-水抽出系<sup>16)</sup>、酵素消化法<sup>21)22)</sup>、超臨界流体抽出法<sup>23)</sup>が検討されている。最初の方法では、魚やエビ等の組織を細断

し、凍結乾燥して粉末状にする。この粉末試料 0.75 g とメタノール 5 ml、クロロホルム 2 ml を遠沈管に入れ 30 分間超音波抽出する。遠心分離後、上澄み液を分液漏斗に移す。この抽出操作を更に 2 回繰り返して、各上澄み液を併せた後、クロロホルム 7.5 ml と水 10.5 ml を加えて 30 秒間緩やかに混合し、水相とクロロホルム相に分離する。水相は窒素気流中で 10 ml まで蒸発し、溶解しているクロロホルムとメタノールを除く。これにメタノール 0.5 ml (試料保存のため) を加えた後、水で 25 ml に定容する。LC に注入する前にシリカ系の Sep-Pak C<sub>18</sub> カートリッジに通してクリーニングを行い、初期の流出液 10 ml は捨て、後の 15 ml を分析に用いる。本法の抽出率は水相とクロロホルム相を併せると、エビ、カニ、魚の muscle 組織では 95~99% と高いが、魚の肝臓や貝類では 46~84% と低い。全抽出量のうちクロロホルム相には 1~18% が存在しており、これらはホスファチジルアルセノコリンのような arsenolipids と考えられる。

二番目の方法では、10 ml の遠沈管に粉末試料 0.25 g とメタノールと水を 2.5 ml ずつ加え、15 分間超音波抽出する。遠心分離後、上澄み液を分取する。この抽出操作を 5 回繰り返して、すべての上澄み液を併せた後、蒸発乾燥させる。これに水 5 ml を加えて溶解し、フィルターで濾過して試料溶液とする。この方法の抽出率は NRCC (National Research Council Canada) の標準試料 DORM-1 (dogfish muscle) で 93.5%, DOLT-1 (dogfish liver) で 67.0%, 最初の方法の抽出率 DORM-1 (水相のみ 90.4%, 水相+クロロホルム相 95.0%), DOLT-1 (各々 61.4% と 78.7%) と近い値が得られている。

酵素による消化法では、遠沈管に試料 1 g とトリプシン 100 mg を入れ、0.1 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20 ml を添加した後、ふたをして 37°C の振り混ぜ槽で 4 時間反応させる。超遠心分離後、上澄み液を 0.45 μm のフィルターで濾過し分析するまで 4°C で保存する。トリプシンは脂質-タンパク質の膜を壊して細胞内容物を放出するため、クロロホルム-メタノール-水系に比べて高い抽出率が期待され、事実 DORM-1 や whiting (タラ類の魚) では高い値が得られたが、plaice (カレイ) や mackerel (サバ), lemon sole (ヒラメ), haddock (タラ類の魚) では抽出率が低くなっており、これは魚組織の組成の違いによるものと考えられる。トリプシンはタンパク質分解酵素で、脂質を分解できないため脂質に結合したものは抽出されない。又、plaice から検出された DMA はクロロホルム-メタノール-水系では認められないことから、トリプシンにより AsB が一部分解されて生成したと考

えられる。

超臨界流体抽出法では、試料 0.2 g と 0.7 g の支持マトリックス（抽出時の詰まりを防ぐため）を混合して抽出用セルに入れ、モディファイヤーとしてメタノールを 20% 添加した超臨界流体 CO<sub>2</sub> (60°C, 5500 psi) で 10 分間抽出する。抽出率としては DORM-1 で 57±8% の低い値しか得られてないが、まだ十分抽出条件の検討がなされておらず、今後改善の余地はあると考えられる。

## 2・2 鉛化合物 (Table 5)

鉛に関しては、ガソリンのアンチノッキング剤に使用されたテトラエチル鉛 (TTEL) とその分解生成物に関心が持たれている。無機の鉛 (Pb<sup>II</sup>), トリメチル鉛 (TML), トリエチル鉛 (TEL) はイオン対逆相クロマトグラフィーやイオン交換クロマトグラフィーでは分離度が低く、逆相クロマトグラフィー、それも C<sub>18</sub> よりも C<sub>8</sub><sup>38)</sup> を固定相とするほうが分離度が高い。C<sub>8</sub> は疎水性が小さいため移動相のメタノール濃度も低くできる。Yang らは、逆相クロマトグラフィーで分離後、水素化物発生法と結合して高感度化を図っている<sup>38)</sup>。水素化物発生法は感度の向上だけでなく、気液分離器で大部分の有機溶媒が除かれるので LC のメタノール濃度を自由に変えられるという特長もある。応用例としては、標準試料 (NIST SRM 2715) の高濃度の TTEL<sup>35)</sup>, 人工雨水にスパイクした TML<sup>37)</sup>, 標準試料 (NIST SRM 2670, 1648) の Pb<sup>II36)38)</sup> があるが、実際の環境試料に適用されたものはない。これは、アンチノッキング剤としての TTEL が使用禁止となって以来、環境中の濃度は低く LC/ICP-MS の感度では不十分なこと、更なる高感度化が必要なことを示している。

## 2・3 水銀化合物 (Table 6)

水銀に関しては、無機の水銀 (Hg<sup>II</sup>), バイオメチレーションにより Hg<sup>II</sup> から生じるメチル水銀 (MeHg), 農薬や木材の殺菌剤として使用されるフェニル水銀 (PhHg), 一部のコンタクトレンズ洗浄液に含まれる thimerosal 等が分析されている。分離法としてはイオン対逆相クロマトグラフィー<sup>36)</sup>と逆相クロマトグラフィー<sup>32)39)40)</sup>が検討されているが、分離能は後者のほうが高い。thimerosal は LC で分離中にエチル水銀に解離する。試料導入法としては、ニューマティックネブライザー以外に超音波ネブライザー<sup>32)</sup>, DIN<sup>36)</sup>, 還元気化法<sup>39)</sup>が使われている。DIN はメモリー効果がほとんどないため、Hg, I, B のようにスプレーチャンパー等でメモリー効果が大きい元素に有効である。又、DIN は流

量が小さく ICP 中心部に直接噴霧するため、有機溶媒濃度が 75% までならば ICP に安定に導入でき、50% までならばサンプラーコーンに炭素を析出せずに導入できる。従って移動相の有機溶媒量を分離に都合のよい高濃度に設定できる。

生物試料のメチル水銀の抽出法<sup>32)</sup>としては、遠沈管に粉末試料 0.5 g とアセトン 3 ml を採り振り混ぜた後、遠心分離してアセトン相を捨て脂肪分を除く。次に、3 M HBr (含 3% KBr) 4 ml と CuSO<sub>4</sub> 飽和溶液 1 ml を添加して 20 分間振り混ぜた後、トルエン 2 ml を加えて 20 分間振り混ぜ、メチル水銀を臭化物としてトルエンに抽出する。遠心分離してトルエン相を分取した後、トルエン 1 ml を添加してこの抽出操作を更に 2 回繰り返した後トルエン相を併せる。これに LC の移動相溶液 (3% メタノール, 1.5% アセトニトリル, 0.1% 2-メルカプトエタノール, 0.06 M 酢酸アンモニウム) を 3 ml 添加して 10 分間振り混ぜ、メチル水銀を水相に逆抽出する。遠心分離後、窒素気流下でトルエンを蒸発させ、残った水相のうち 2 ml を 5 倍希釈して測定試料とする。DORM-1 に対する添加回収実験ではメチル水銀の抽出率は 65±5% である。Bushee ら<sup>39)</sup>の方法も、臭化物の代わりに塩化物として抽出する以外はほぼ同じであり、tuna sample に対する添加回収率も 71±5% と近い値が得られている。LC/ICP-MS の感度は一般的に濃度の高い生物試料に対しては十分な場合が多いが、海水中の Hg<sup>II</sup> に対しては 50 倍以上、又 MeHg に対しては更に高倍率の前濃縮が必要である<sup>40)</sup>。

## 2・4 セレン化合物 (Table 7)

セレンに関しては、無機の亜セレン酸 (Se<sup>IV</sup>), セレン酸 (Se<sup>VI</sup>), それらの生体内での代謝物であるトリメチルセレンニウムイオン (TMSe), セレノシステイン (SeCys), セレノメチオニン (SeMet) に関心が持たれている。酸解離定数は Se<sup>IV</sup> が pK<sub>1</sub>=2.46, pK<sub>2</sub>=7.31, Se<sup>VI</sup> が pK<sub>2</sub>=1.92 であるため、中性領域では各々 HSeO<sub>3</sub><sup>-</sup> と SeO<sub>4</sub><sup>2-</sup> として存在する。一方、TMSe は一価の陽イオン、SeCys と SeMet は両性イオンとして存在する<sup>43)</sup>。分離法としては、オクタデシル基とアミノ基を等モルずつ化学結合させたシリカゲルを固定相とする、すなわち逆相とイオン交換の両方の性質を有するカラムを用いると、SeCys, SeMet, Se<sup>IV</sup>, Se<sup>VI</sup> の分離が行える。Quijano ら<sup>43)</sup>によると Se<sup>IV</sup> と Se<sup>VI</sup> の分離はイオン対逆相クロマトグラフィーでは困難であるが、Yang ら<sup>42)</sup>は同じカラムを用いて、イオン対試薬をテトラブチルアンモニウムに替えることにより、尿中の

Table 5 Lead speciation by LC/ICP-MS

Element	Species	LC mode	Sample introduction	Detection limit	Sample	Comments	Ref. (year)
Pb	Pb <sup>II</sup> , TML, TEL, (TPhL)	RP	PN	25~87 pg		separation in the RP mode was superior to those in the IP and IE modes. spray chamber was cooled to -9°C for desolvation.	34 (1991)
Pb	Pb <sup>II</sup> , TEL, TPhL, TTEL	IP	PN	0.14~3.9 ng	TTEL in NIST SRM 2715 Fuel	gradient elution from 40 to 90% methanol. spray chamber was cooled to -10°C for desolvation.	35 (1992)
Pb	Pb <sup>II</sup> , TML, TEL	IP	DIN	200 fg	NIST SRM 2670 freeze-dried urine (normal level)	micro-scale LC	36 (1992)
Pb	Pb <sup>II</sup> , TML, (TEL)	IP	PN	96 pg	TML in artificial rainwater	spray chamber with small dead volume (40 ml) was cooled to -15°C for desolvation.	37 (1994)
Pb	Pb <sup>II</sup> , TML, TEL	RP	HG	60~600 fg	Pb <sup>II</sup> in NIST SRM 1648 Urban Particulate		38 (1995)

TML: trimethyllead; TEL: triethyllead; TPhL: triphenyllead; TTEL: tetraethyllead

Table 6 Mercury speciation by LC/ICP-MS

Element	Species	LC mode	Sample introduction	Detection limit	Sample	Comments	Ref. (year)
Hg	MeHg, Hg <sup>II</sup> , EtHg, thimerosal	RP	PN	1~3 ng	NIST SRM 50 tuna sample, contact lens solution		39 (1988)
Hg	MeHg, Hg <sup>II</sup> , EtHg, Hg <sup>II</sup> , MeHg, EtHg, PhHg	ibid. IP	CVG DIN	90~180 pg 6~7 pg (for standard), 7~18 pg (for urine)	urine	cold vapor generation by NaBH <sub>4</sub> micro-scale LC	ibid. 36 (1992)
Hg	Hg <sup>II</sup> , MeHg, EtHg, thimerosal	RP	UN	70~160 pg	NRCC DORM-1 dogfish muscle contact lens solution, waste water	thimerosal was dissociated into EtHg during sample handling or during the LC run.	32 (1993)
Hg	MeHg, Hg <sup>II</sup> , EtHg	RP	PN	25~75 pg	seawater	off-line preconcentration using a dithiocarbamate resin gave detection limits of 24 ng l <sup>-1</sup> for MeHg and 26 ng l <sup>-1</sup> for Hg <sup>II</sup>	40 (1996)

CVG: cold vapor generation; MeHg: methylmercury; EtHg: ethylmercury; PhHg: phenylmercury; thimerosal: sodium 2-ethyl(mercuriomercapto) benzoate [sodium ethyl mercurithiosalicylate]

Table 7 Selenium speciation by LC/ICP-MS

Element	Species	LC mode	Sample introduction	Detection limit	Sample	Comments	Ref. (year)
Se	Se <sup>IV</sup> , Se <sup>VI</sup>	IP	UN	100 pg		first paper on LC/ICP-MS	41 (1986)
	Se <sup>IV</sup> , Se <sup>VI</sup>	IE (anion exchange)	DIN	15 pg		micro-scale LC	24 (1993)
	TMSe, Se <sup>IV</sup> , Se <sup>VI</sup>	IP	UN	22~74 pg	urine		42 (1995)
	SeCys, SeMet, Se <sup>IV</sup> , Se <sup>VI</sup>	RP+IE(anion exchange)	PN	100~200 pg	BCR CRM603 water sample	full separation of 4 species was not successful with RP, IP(cation pairing, anion pairing) or IE(anion exchange).	43 (1996)

Se<sup>IV</sup>: selenite; Se<sup>VI</sup>: selenate; SeCys: selenocysteine; SeMet: selenomethionine; TMSe: trimethylselenonium ion

Table 8 Tin speciation by LC/ICP-MS

Element	Species	LC mode	Sample introduction	Detection limit	Sample	Comments	Ref. (year)
Sn	MMT, DMT, TMT, TET, TPtT	Micellar	PN	26~126 pg		SDS micellar mobile phase and C-18 stationary phase	45 (1989)
	TBT, DBT, MBT	IE (cation exchange)	PN	20~40 pg	NRCC PACS-1 harbour sediment	60% methanol mobile phase. no addition of O <sub>2</sub> to injector gas.	46 (1990)
	MMT, DMT, DET, TMT (Sn <sup>IV</sup> , TMT, TET), TPtT, TPhT, TBT	IP	DIN	8~10 pg		micro-scale LC	18 (1992)
		IP	UN	2.8~16 pg	NRCC PACS-1 harbour sediment harbour water	50% methanol mobile phase. desolvation at -10°C. O <sub>2</sub> (20 ml min <sup>-1</sup> ) was added to injector gas to prevent carbon deposition.	47 (1995)
	TMT, DMT, DPhT, TPhT, DBT, TBT	Micellar	PN	24~51 pg		TDS micellar mobile phase and C-4 stationary phase. tapered ICP torch was used to prevent clogging of injector tube.	48 (1995)
	DPhT, TPhT, DBT, TBT	Micellar	PN	73~86 pg	artificial sea-water	batch operation of solid phase extraction for preconcentration of organotins.	49 (1995)

MMT: monomethyltin; DMT: dimethyltin; TMT: trimethyltin; TET: triethyltin; TPtT: tripropyltin; DBT: dibutyltin; TBT: tributyltin; DPhT: diphenyltin; TPhT: triphenyltin

TMSe, Se<sup>IV</sup>, Se<sup>VI</sup> を定量している。Se の環境中での変換は文献<sup>44)</sup>に詳しい。

### 2・5 スズ化合物 (Table 8)

スズに関しては、船底防汚剤として使用されたトリブチルスズ (TBT) やその分解生成物であるジブチルスズ (DBT), モノブチルスズ (MBT), 農用殺菌剤・殺虫剤として使用されたトリフェニルスズ (TPhT) などの有機スズ化合物が分析されている。なお, DBT はポリ塩化ビニルの安定剤としても大量に使用されている。これらの化合物をイオン交換やイオン対逆相クロマトグラフィーで分離するには, 移動相のメタノール濃度を各々 60%<sup>46)</sup>, 50%<sup>47)</sup> と高くしなければならないので感度の低下や多原子イオンの干渉が問題となる。このため Suyani らは ODS カラムを固定相として, SDS のミセル溶液を移動相とするミセル液体クロマトグラフィーを用いて, モノメチルスズ (MMT) やトリプロピルスズ (TPrT) を分離した<sup>45)</sup>。しかし, TBT はキャパシティーファクターが大きすぎて溶出しなため, 井上らは ODS カラムより疎水性の小さいブチル基を化学結合したシリカゲルを固定相とし, かつ SDS の代わりにトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンドデシルサルフェート (TDS) を用いて TBT を分析した<sup>48)</sup>。ミセル液体クロマトグラフィーの特長は, 有機溶媒濃度を低くできること, ミセル濃度にグラジエントをかけても次試料の分析までの待ち時間が短いこと, すなわち界面活性剤の濃度が変わってもミセルの数が変わるだけで固定相と相互作用をしているフリーの界面活性剤濃度は変わらないため, 逆相 HPLC と比べて短時間でカラムを初期状態に戻せることである。欠点としては, ミセルは有機溶媒と違って蒸発しないため, トーチの中心管の内径が急になくなった所に付着し詰まる恐れがある。このため井上らは, 中心管の内径を緩やかに変化させている。郡ら<sup>49)</sup>は, この方法とバッチ式の固相抽出法を組み合わせる海水に適用している。大量の海水を濃縮する場合, 従来のカラム法では低い回収率しか得られなかったが, バッチ法では海水 1 l を 1 ml に濃縮した場合でも TBT, TPhT は各々 96%, 94% と高い回収率が得られている。但し, 親水性が増す DBT, DPhT では各々 15%, 10% の値しか得られない。底質や生物試料から有機スズを抽出する方法は GC/ICP-MS の章に記述した。

### 2・6 クロム化合物 (Table 9)

クロムに関しては, 三価 (Cr<sup>III</sup>) が人の健康に必須な栄養素である一方, 六価 (Cr<sup>VI</sup>) は発がん性の有毒

Table 9 Chromium speciation by LC/ICP-MS

Element	Species	LC mode	Sample introduction	Detection limit	Sample	Comments	Ref. (year)
Cr	Cr <sup>III</sup> , Cr <sup>VI</sup>	IE (mixed mode of cation exchange and anion exchange)	PN	17~55 pg			50 (1994)
	Cr <sup>III</sup> , Cr <sup>VI</sup>	IP	HHPN	60~180 pg		O <sub>2</sub> was added to injector gas to prevent carbon deposition. spray chamber was cooled to -20°C for desolvation. measurement of <sup>50</sup> Cr.	51 (1994)
	Cr <sup>III</sup> , Cr <sup>VI</sup>	IE (anion exchange)	DIN	0.6~1.8 pg	NIST SRM2108 industrial waste water	micro-scale LC	52 (1995)
	Cr <sup>III</sup> , Cr <sup>VI</sup>	IE (anion exchange)	PN	40~100 pg	NIST SRM1643c water	Cr <sup>III</sup> was stabilized by chelation with EDTA.	53 (1995)

HHPN: hydraulic high-pressure nebulizer

物質であるため、酸化数別の分析に関心が高い。Cr<sup>III</sup> は Cr(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub><sup>3+</sup>, CrOH<sup>2+</sup>, Cr(OH)<sub>2</sub><sup>+</sup>, Cr(OH)<sub>3</sub><sup>0</sup>, Cr(OH)<sub>4</sub><sup>-</sup>, Cr<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub><sup>4+</sup>, Cr<sub>3</sub>(OH)<sub>4</sub><sup>5+</sup> として存在するが、酸性条件では主に Cr(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub><sup>3+</sup> として存在する。Cr<sup>VI</sup> は pH 6 以上では様々な陰イオン化学種があるが主に CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup> として、pH 2~6 では HCrO<sub>4</sub><sup>-</sup> と Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup>, pH 1 以下では主に H<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> として存在する。分離にはイオン交換クロマトグラフィーやイオン対逆相クロマトグラフィーが用いられる。同位体の存在割合は <sup>52</sup>Cr (83.8), <sup>53</sup>Cr (9.5), <sup>50</sup>Cr (4.3) であるが、<sup>52</sup>Cr は <sup>36</sup>Ar<sup>16</sup>O, <sup>40</sup>Ar<sup>12</sup>C, <sup>35</sup>Cl<sup>16</sup>OH, <sup>36</sup>S<sup>16</sup>O, 一方 <sup>53</sup>Cr は <sup>36</sup>Ar<sup>17</sup>O, <sup>40</sup>Ar<sup>13</sup>C, <sup>37</sup>Cl<sup>16</sup>O などの干渉があり、<sup>36</sup>Ar<sup>17</sup>O のほうが <sup>36</sup>Ar<sup>16</sup>O より小さいため、<sup>53</sup>Cr のほうが低い検出限界が得られている<sup>50)52)</sup>。移動相の有機溶媒濃度が高い場合は、<sup>40</sup>Ar<sup>12</sup>C や <sup>40</sup>Ar<sup>13</sup>C の干渉が少ない <sup>50</sup>Cr で低い検出限界が得られる<sup>51)</sup>。Cr の分析で最も困難なことは価数を変えずに試料を保存することである。Cr<sup>VI</sup> は有機物、亜硝酸、硫黄化合物があると Cr<sup>III</sup> に還元されやすく、一方 Cr<sup>III</sup> はアルカリ性溶液中で Fe<sup>III</sup> や高酸化数の Mn, 溶存酸素によって Cr<sup>VI</sup> に酸化されやすい。現時点では確実な保存方法がないため試料採取直後に分析するほうが良い。

### 2・7 金属タンパク質 (Table 10)

タンパク質と結合した金属に関しては、メタロチオネイン (MT) の分子量分布が検討されている。MT は Cd のような重金属を摂取すると肝臓やじん臓に誘導される金属タンパク質で、重金属の解毒機構との関連で関心が持たれている。通常、分子量分布の測定にはサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) が用いられる。SEC では分子の有効サイズにより分離が行われ、固定相と分析対象分子とのイオン交換やイオン排除などの相互作用はできるだけ小さくしている。このため、通常移動相は塩を含んでおり、塩濃度が高いほうが分離能が高いことが多い<sup>57)</sup>。しかし、実試料の分析ではカラムへの吸着が大きな問題となる。例えば、豚のじん臓中の Cd メタロチオネイン (Cd-MT) の測定では、Cd<sup>2+</sup> と親和力の強い配位子がカラムに吸着されていると次試料の Cd<sup>2+</sup> が吸着されて見掛け上 Cd<sup>2+</sup> がなくなったり、逆に金属の抜けた MT がカラムに吸着されていると次試料の Cd<sup>2+</sup> と再結合して、Cd-MT の位置にピークが出現する等の問題があるため、1 回の測定ごとにガードカラムを取り替える必要がある。更に、試料と標準溶液の一組の測定が終了するごとに、7 種類の溶媒でカラムを順次洗浄しなければならないなど多大な労力と時間が要

求される<sup>55)</sup>。又、MT の安定度定数は Cu; 10<sup>19</sup>~10<sup>17</sup>> Cd; 10<sup>17</sup>~10<sup>15</sup>> Zn; 10<sup>14</sup>~10<sup>11</sup> の順に小さくなる一方、金属とカラムとの結合力は電気陰性度が低くなるにつれて大きくなるためこの逆になる。従って、カラムに Cu が吸着していたり、移動相に不純物として含まれていると、MT 中の Zn が Cu で置換される。特に MT のピークが出現する最初の部分 (リーディングエッジ側) でこの現象が顕著となる<sup>57)</sup>。

MT の抽出法としては、じん臓の凍結試料 2.5 g を 10 ml のガラスビーカーにひょう量し、7 g の 0.02 M トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン (Tris)-HCl 緩衝液 (pH 8, 含 0.25 M ショ糖) を加えてホモジナイズする。これを遠沈管に移して 10000 g で 20 分間遠心分離して、上澄み液を 3, 1.2, 0.45 μm のフィルターで順次濾過する。濾液に同量の Lipoclean (クロロフルオロカーボンの一種で血しょうなどの濁りをとるために使われる) を加えて、ボルテックスミキサーで 1 分間かき混ぜた後、遠心分離する。水相を分取後、同量の 0.24 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.5) で希釈し、LC に注入する直前に 0.22 μm のフィルターで濾過する。

### 2・8 その他の元素 (Table 11)

ICP-MS をリンや硫黄の選択的な検出器として用いることにより、リン酸、ポリリン酸、アデノシンリン酸や、硫酸、チオ硫酸、アミノ酸の分析が可能となる<sup>61)</sup>。以前から ICP-AES でも同様に検討されていたが<sup>64)~66)</sup>、それに比べると 2~3 けた低い検出限界が得られている。

LC/ICP-MS 法はシグナルがトランジェントで、各化学種が出現するときのマトリックスも常に同じとは限らないことから、精度度が十分でない場合が多い。このため同位体希釈法 (ID) を組み込んだ LC/ICP-IDMS が検討されている<sup>62)</sup>。ID 法としては、1) 分析対象化学種の分子構造が明らかな場合に、濃縮同位体でラベル化された分析対象化学種をカラムで分離する前の試料に添加する方法と、2) 分析対象化学種の構造が不明な場合に、カラムで分離した後、スパイク溶液 (濃縮同位体でラベル化された別の化学種を含む溶液) を連続的に混合する方法がある。1) の例としては I<sup>-</sup>/IO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cr<sup>III</sup>/Cr<sup>VI</sup>, Se<sup>IV</sup>/Se<sup>VI</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> が挙げられる。ラベル化された化学種が分離前に試料に添加されるため、その後の化学的な処理やカラム内での損失に結果が影響されないが、前処理や分離中に化学種が変化してはならない。ミネラルウォーターにラベル化された I<sup>-</sup> と IO<sub>3</sub><sup>-</sup> を添加して、LC/ICP-IDMS で分析した場合

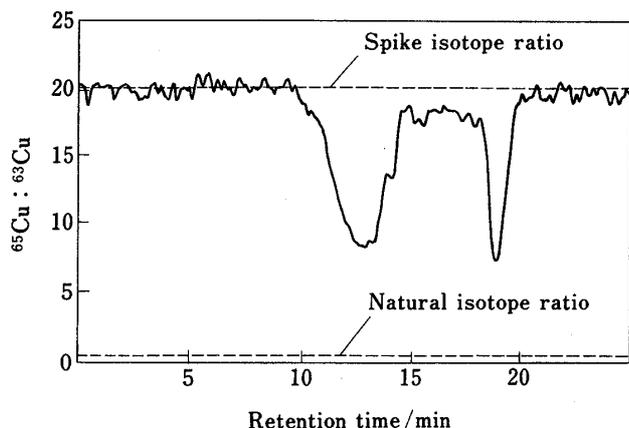
Table 10 Speciation of metalloprotein by LC/ICP-MS

Element	Species	LC mode	Sample introduction	Detection limit	Sample	Comments	Ref. (year)
Cd	metallothionein	SE	PN	—	—	size distribution of water soluble Cd species. <i>in vitro</i> gastro-intestinal digestion.	54 (1987)
Cd	metallothionein	SE	PN	—	pig kidney	precursors and metabolites of Au-based drugs for Rheumatoid arthritis	55 (1989)
Au	Et <sub>3</sub> PAuCl, auranofin, deacetylated auranofin, myochrisine	IE (weak anion exchange)	PN	—	blood serum and plasma	size distribution of protein bound metals (Au, Cu, Zn). changes in the elemental composition of the metalloprotein during the LC run.	56 (1989)
Cd, Zn	Au bound to IgG and human serum albumin	SE	ibid.	—	ibid.	measurement of <sup>56</sup> Fe interference from <sup>40</sup> Ca <sup>16</sup> O was chromatographically separated.	57 (1990)
Cu	metalloprotein	SE	PN	120~270 pg	animals exposed to elevated levels of Cd	—	58 (1991)
Fe	metalloprotein	SE	PN	1 ng	—	—	59 (1992)
Cd etc	metalloprotein	SE	PN	—	—	—	ibid.
Zn	Zn-containing species	RP	ibid.	—	chicken meat	size distribution of metalloprotein. micro-scale LC.	24 (1993)
Cd etc	metalloprotein	SE	DIN	0.5~3 pg	—	indirect method of quantifying concentration of metalloprotein-like proteins by use of metal saturation assay.	60 (1995)
Cd, Zn	metallothionein	SE	PN	—	mussels	—	—
Cu	metallothionein-like protein	SE	PN	—	—	—	—

Et<sub>3</sub>PAuCl: (triethylphosphine) gold chloride; auranofin: (formula was not shown); myochrisine: sodium gold thiomalate

Table 11 Speciation of other elements by LC/ICP-MS

Element	Species	LC mode	Sample introduction	Detection limit	Sample	Comments	Ref. (year)
P	$\text{PO}_4^{3-}$ , $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ , $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ , AMP, ADP, ATP, cyclic 2,3-AMP	IP	UN	0.4~4 ng		2~3 orders of magnitude lower detection limits than those with ICP-AES. measurement of $^{31}\text{P}$ . measurement of $^{34}\text{S}$ .	61 (1988)
S	$\text{SO}_4^{2-}$ , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ , cysteine, methionine	ibid.	ibid.	6~8 ng			ibid.
Ga	Ga-porphyrins	IP	V-groove	$64 \text{ pg s}^{-1}$	coal extracts	$\text{O}_2$ was added to injector gas at 2.5%. spray chamber at $-10^\circ\text{C}$ and silicone membrane were used for desolvation.	11 (1993)
V	$\text{V}^{\text{IV}}$ , $\text{V}^{\text{V}}$	IE (mixed mode of cation exchange and anion exchange)	PN	24~114 pg		V species were unstable, hence standard solutions needed to be stored in the refrigerator.	50 (1994)
Cu	complexes with humic substances	SE	PN	—		accurate determination by use of on-line isotope dilution (LC/ICP-IDMS)	62 (1994)
Mo	ibid.	ibid.	ibid.	—		ibid.	ibid.
I	$\text{I}^-$ , $10_3^-$ , organo-I	IE, RP	ibid.	—		ibid.	ibid.
Sb	$\text{Sb}^{\text{V}}$ , $\text{Sb}^{\text{III}}$	IE (anion exchange)	PN	90~750 pg	waste water river water seawater	ibid.	63 (1995)
	ibid.	ibid.	HG	8~40 pg	ibid.	pre-reduction with KI was unnecessary because of no significant difference in HG efficiency between $\text{Sb}^{\text{V}}$ and $\text{Sb}^{\text{III}}$	ibid.



**Fig. 3** Copper isotope ratio chromatogram during separation of a river water sample by SEC using the species-unspecific spiking mode

Reproduced by permission of the Royal Society of Chemistry, from ref. 62.

0.5~20 ng ml<sup>-1</sup> の範囲で 2% の精度が得られる。2) の例としてはフミン酸やタンパク質と結合した金属の分子量分布の測定が挙げられる。これらは分子構造が不明なため同位体でラベル化したものは合成できない。Fig. 3 に示すように、一定の同位体比のスパイク溶液に、カラムで分離された化学種（天然の同位体比を持つもの）が混合されると、同位体比の変化となって現れる。この場合にはスパイク溶液と混合する以前に分析対象化学種の損失があってはならない。又、化学種間で ICP-MS の感度に差がないことが前提だが、前述したようにこれが確認されているわけではない。

### 3 超臨界流体クロマトグラフィー/誘導結合プラズマ質量分析法 (SFC/ICP-MS)

超臨界流体はガスに比べて溶解力が大きく、液体に比べて拡散係数が大きいので、これを移動相とする超臨界流体クロマトグラフィー (SFC) では、不揮発性分子の高分解能分離が可能といわれている。このため、イオン状の有機スズや有機鉛も誘導体化せずに分離することができる。ICP-MS との結合は、加熱した (75°C) ステンレス鋼パイプに SFC のキャピラリーカラムを通し、トーチの中心管先端部のフリットリストラクターと接続する。リストラクターは超臨界流体状態を維持するための圧力調整具である。リストラクターから超臨界流体が大気圧のガスとして解放されるとき、分析対象化学種も ICP に導入される。その際 Joule-Thomson 効果によりリストラクターが冷却されるため、高沸点の有機スズは 300°C 以上に加熱しないと凝縮して分離が悪くなる<sup>68)</sup>。

CO<sub>2</sub> の SFC/ICP-MS のバックグラウンドスペクトルは、溶液噴霧の場合と比べて単純なため、<sup>56</sup>Fe や <sup>35</sup>Cl (有機塩素化合物の測定に使用) の検出限界が改善される可能性がある。しかし、SFC に導入される試料量は 10~50 nl と非常に少ないため濃度換算の検出限界が悪いこと、有機スズではモディファイヤーを添加しても分離度がほとんど改善されないこと<sup>67)</sup>、アルキル鉛では SFC 中で分解や置換基交換が起こりやすいこと (例えば、テトラエチル鉛とトリブチル鉛を含む試料を注入するとエチル基とブチル基が交換して別の化学種のピークが認められる<sup>69)</sup>)、分離能を高めるため SFC の圧力グラジエントを用いると、ICP に導入される CO<sub>2</sub> 量が増えるためイオンレンズのチューニングがずれて感度が変化すること (100 atm の高圧の CO<sub>2</sub> でイオンレンズのチューニングを行うことにより一部改善できる<sup>68)</sup>)、CO<sub>2</sub> 量が多くなるとサンプラーに炭素が析出し、出力を 1.5 kW 以上になるとサンプラーとプラズマ間でアーク放電が起こることなど多くの問題点が報告されている。Table 12 に示した論文はすべて同一グループによって行われたもので、最近では新しい研究成果もほとんど発表されていない。現時点で判断する限り、SFC/ICP-MS の将来的な展開はかなり難しいと言わざるを得ない。

### 4 ガスクロマトグラフィー/誘導結合プラズマ質量分析法 (GC/ICP-MS) (Table 13)

ICP-AES を GC の元素選択的検出法として用いることは、1979 年に Denton ら<sup>85)</sup>により始められたが、その後あまり使用されることはなかった。ICP は溶液試料の分析法として LC との結合が目ざされ、GC との結合には溶液噴霧はできないが非金属元素の検出が可能な He MIP-AES (マイクロ波誘導プラズマ発光法) が用いられて、両者の住み分けが行われていた。ICP-MS と GC の結合は Van Loon ら<sup>72)</sup>や Houk ら<sup>73)</sup>により 1986 年ごろから開始された。ICP-MS でも ICP-AES と同様に、GC で分離した個々の有機化合物の元素分析がまず検討された<sup>73)</sup>。GC/ICP-MS のバックグラウンドスペクトルは溶液噴霧と比べて非常に単純であり、水由来の O や硝酸由来の N を含む多原子イオンの干渉が少ない。このため、<sup>11</sup>B, <sup>12</sup>C, <sup>16</sup>O, <sup>28</sup>Si, <sup>31</sup>P, <sup>32</sup>S, <sup>35</sup>Cl, <sup>79</sup>Br, <sup>127</sup>I の検出限界も溶液噴霧に比べて大幅に改善され、I と P で 1 pg s<sup>-1</sup> と最も低く、S は 3 ng s<sup>-1</sup>、最も高く O の 400 ng s<sup>-1</sup> である。元素分析では、ICP にとって過負荷にならないよう、GC への試料注入量を少なくすることが大切である。そのような条件では分子構造に

Table 12 Speciation by SFC/ICP-MS

Element	Species	Injection volume	Detection limit	Comments	Ref. (year)
Sn	(TMT, TBT), TPhT	10 nl	34~47 fg	first paper on SFC/ICP-MS	67(1991)
Sn	TTBT, TBT, TPhT, TTPhT	50 nl	200~800 fg	CO <sub>2</sub> pressure programme was used for separation. no modifier was added. ion lenses of ICP-MS were tuned at 100 atm of CO <sub>2</sub> .	68(1992)
Pb	TTBL, TBL	50 nl	0.5~10 pg	decomposition and ligand exchange reaction occur during the SFC run.	69(1992)
Hg	DEtHg	50 nl	3 pg		ibid.
Cl, Br	halogenated organic compounds	50 nl	0.75~15 pg	SFC/(He)MIP-MS	70(1992)
As	TMA, TPhAs, TPhAsO	150 nl	0.4~4.8 pg	multi-elemental detection	71(1995)
Sb	TPhSb		10 fg		
Hg	DPhHg		50 fg		

TMA: trimethylarsine; TPhAs: triphenylarsine; TPhAsO: triphenylarsine oxide; TPhSb: triphenylantimony; DPhHg: diphenylmercury

よらず、元素の強度比は分子内の元素の存在比に比例するので、この強度比から分子式を推定することができる。GC/ICP-MS の同位体比測定精度は、連続溶液噴霧 (5 分間) に比べると 3 倍ほど悪いが、それでも安定同位体を利用した薬の代謝や環境汚染メカニズムの研究には十分な精度である。地質試料や生物試料で見られる同位体分別効果を調べるにはマルチコレクター型 ICP-MS が必要である。

GC と ICP-MS の結合で大切な点は、温度が均一に制御されたトランスファーラインを製作すること、特に ICP に導入される直前まで高温を維持することである。低温の箇所があると GC で分離したものが凝縮されて分離度と感度が低下し、メモリーの原因となる。Les Ebdon らは、GC のキャピラリーカラムを通したステンレス鋼チューブに直接電気を流して電気抵抗加熱することにより、450°C まで昇温できる高温用のトランスファーラインを作製し (Fig. 4)<sup>77)78)</sup>、ジオポルフィリンや有機スズ、フェロセン、ジエチルジチオカルバメート錯体等<sup>76)</sup>を分析している。ジオポルフィリン中の Ni/V の比は海洋底質たい (堆) 積当時の底質-水界面の酸化還元状態の指標として<sup>86)</sup>、又 VO<sup>2+</sup> ポルフィリンの DPEP 型/ETIO 型の比は原油成熟度の指標として検討されている<sup>87)</sup>。又、石油中の Ni や V などのポルフィリン錯体は、クラッキングや脱硫触媒の触媒毒として精製プロセスで問題となっており、金属ポルフィリンの高感度で迅速な分析法が必要とされている。ICP-MS で

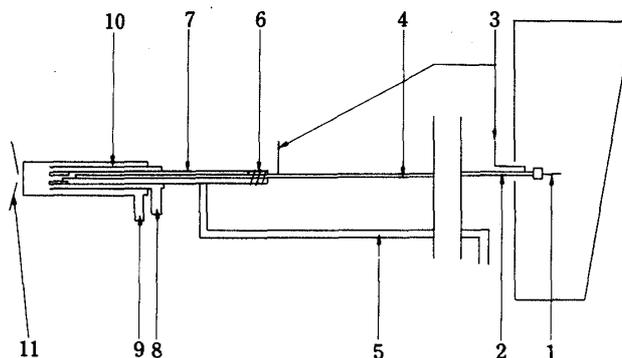


Fig. 4 GC/ICP-MS interface

1: capillary column; 2: zero dead volume stainless-steel glass lined union; 3: copper connectors to transformer; 4: stainless-steel capillary column; 5: argon heater; 6: ceramic paste; 7: injector insert; 8: intermediate gas; 9: outer gas; 10: demountable torch; 11: ICP-MS interface. Reproduced by permission of the Royal Society of Chemistry, from ref. 78.

は 10 元素以上を同時にモニタリングできるので、キャピラリーカラムを用いる GC (CGC と略) と結合すると、短時間で多種類の金属ポルフィリンを分析できる。Les Ebdon らは、各産地のオイルシェールに本法を適用し、産地ごとに特有な金属ポルフィリンのフィンガープリントを得ている。しかし、現時点では LC と比べて分離度が悪く、又カラム性能が急速に (5~10 回の試料

Table 13 Speciation by GC/ICP-MS

Element	Species	GC column	GC temp. (transfer line temp.)	Detection limit	Sample	Comments	Ref. (year)
Sn	TMPeT, DMDPeT, MMTPeT	packed	60~250°C(250°C)	6~16 ng	—	first paper on GC/ICP-MS. O <sub>2</sub> was added to injector gas at 2%.	72 (1986)
non-metal	organic compounds	packed	120°C(200°C) or 150°C(250°C)	1 pg s <sup>-1</sup> (I, P)~400 ng s <sup>-1</sup> (O)	—	elemental analysis of organic compound (B, C, Br, Cl, Si, P, O, I, and S). empirical formula.	73 (1987)
Cl	CH <sub>2</sub> CCl <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> CCl <sub>3</sub> , CHCl=CCl <sub>2</sub>	packed	70°C(140°C)	1.8~2.1 ng	—	interface allowing GC coupling and solution nebulization without instrumental reconfiguration.	74 (1992)
Pb	TTML, TMEL, DMDEL, MTEL, TTEL	capillary	40~180°C(no data)	50 pg (0.7 pg s <sup>-1</sup> )	TTML and TTEL in NIST SRM1637	first paper on capillary GC/ICP-MS. on-column injection.	75 (1992)
Sn	Sn <sup>IV</sup> , DPr-T, MBT, DBT, TBT	capillary	40~200°C (205~248°C)	3~6.5 pg s <sup>-1</sup>	sediment	ethylation with Grignard reagent. on-column injection.	76 (1992)
Fe	ferrocene	ibid.	60~180°C (190~241°C)	3 pg s <sup>-1</sup>	—	interfered from ArO was small because of dry plasma.	ibid.
Ni	Ni diethyldithiocarbamate	ibid.	50~320°C (266~337°C)	6.5 pg s <sup>-1</sup>	—	ibid.	ibid.
metallo-porphyrin	octaethylporphyrin of Ti, V, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn	capillary	60~350°C(400°C)	100~550 pg	coal, oil shale	transfer line in the ICP torch was also heated resistively. on-column injection.	77 (1993)
metallo-porphyrin	metalloporphyrin of Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn	capillary	50~402°C(450°C)	0.1~1 ng	oil shale	flexible transfer line made of stainless-steel capillary was resistively heated. on-column injection. O <sub>2</sub> was added to injector gas at 3.5%.	78 (1994)
Sn etc.	TTMT etc.	packed	-100~180°C (no data)	—	water & gas from domestic waste deposits	hydride purge & trap	79 (1994)

Element	Reagents	Temperature (°C)	Carrier Gas	Sample	Concentration	Reference
Sn	TMT, DMT, MMT, MBT, TTPrT, DBT, MHeT, TBT, MOcT, TTBT, DHeT, DPhT, DOcT, TCyT, TPhT	80 ~ 280 (240)	capillary	NRCC PACS-1 sediment	50 fg	ethylation with NaBEt <sub>4</sub> 80 (1995)
Hg	DMcHg, MeHg, DEtHg	ibid.	ibid.		120 fg	ibid.
Pb	TML, TPrL, TTEL, MPrL, TTBL	ibid.	ibid.		100 fg	ibid.
Hg	Hg <sup>0</sup> , Hg <sup>II</sup> , MeHg	105 (no heating, room temp.)	packed	IAEA CRM 356 harbor sediment	900 fg	ethylation with NaBEt <sub>4</sub> measurement of methylation rate by using enriched stable isotope. 81 (1995)
Sn	Sn <sup>IV</sup> , MBT, MPhT, DBT, TBT, DPhT, TPhT	liq. N <sub>2</sub> ~ 250 (120)	packed	seawater	1.8 ~ 300 pg	hydride purge & trap 82 (1996)
Se	DMSe etc.	-100 ~ 200 (no data)	packed	intra-oral air	30 (Ge) ~ 860 fg (Pb)	gas sample from GC output, combined with Rh solution (10 ng ml <sup>-1</sup> ), was nebulized into ICP. Rh was used as an internal standard. 83 (1996)
Se	Se <sup>IV</sup> , Se <sup>VI</sup> , DMSe	110 ~ 200 (220)	capillary	NIST SRM 1643b water BCR CRM 602	20 pg ml <sup>-1</sup>	derivatization of Se <sup>IV</sup> to piarselenol. on-column injection. on-line isotope dilution (GC/ICP-IDMS). 84 (1996)

(Pb) TTML: tetramethyllead; TMEL: trimethylethyllead; DMDEL: dimethyldiethyllead; MTEL: methyltriethyllead; MPrL: monopropyllead; TTBL: tetrabutyllead; (Sn) TTMT: tetramethyltin; TMPEt: trimethylpentyltin; DMDPeT: dimethyldipentyltin; MMTPeT: monomethyltripentyltin; DPrT: dipropyltin; MBT: monobutyltin; TTBT: tetrabutyltin; MHeT: monoheptyltin; DHET: diheptyltin; MOcT: monoocetyltn; DOcT: dioctyltin; TCyT: tricyclohexyltin; (Se) DMSe: dimethylselenium

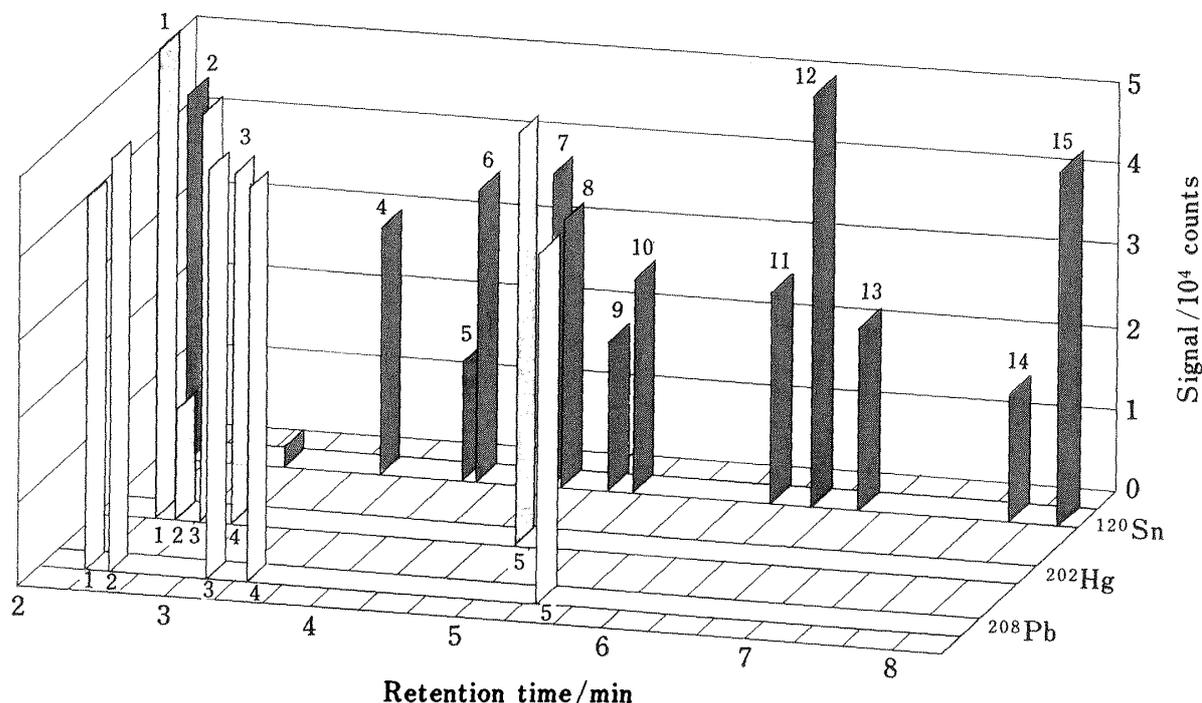


Fig. 5 Simultaneously detected chromatograms of 25 organometallic species of the elements Sn, Hg and Pb

Reproduced by permission of the Royal Society of Chemistry, from ref. 80.

注入で)劣化するという問題がある。

CGC/ICP-MSはCGCの高分離能とICP-MSの高感度・高選択性が生かされるため、理想的なスペシエーション法の一つである。Prangeら<sup>80)</sup>は、底質中の15種類の有機スズを水中でテトラエチルホウ酸ナトリウム( $\text{NaBEt}_4$ )による誘導体化と溶媒抽出を行い、有機水銀や有機鉛と同時に、約8分間で3元素計25種類の有機金属化合物を分析している(Fig. 5)。各化学種の検出限界(絶対量)はスズ、水銀、鉛に換算して各々約50, 120, 100 fgである。この方法ではCGCへの注入量は1  $\mu\text{l}$ であるが、最近開発されている大容量の試料注入(250~500  $\mu\text{l}$ )法を使用すれば、濃度換算上は更に100分の1以下の検出限界が期待できる。大容量試料注入法では脱溶媒の際、メチルスズ等の低沸点化合物も揮散するため、これらの化学種に対してはパージ & トラップ法<sup>88)</sup>がCGC/ICP-MSへの試料導入法として適していると考えられる。ICP-MSの検出限界は装置の感度だけでなく、分析対象種をいかに損失を少なくしてICPに導入するかで決められる。キャピラリーカラムは最も不活性化が進んだ材質であり、壁面での吸着・分解による損失は最も少ない。この点からもCGC/ICP-MSは超微量分析法としての資格を備えている。

誘導体化法としては、従来のGrignard試薬による方法は水やメタノールなどの極性分子があると成功しないため、いったんヘキサン等の無極性溶媒に抽出した後、誘導体化する必要がある。又、懸濁物があると無極性溶媒では有機スズの回収率が悪くなるため、トルエン等の弱い極性溶媒に抽出した後、蒸発してヘキサンに転溶したほうがよいと報告されている<sup>89)</sup>。いずれにせよ操作が煩雑で時間がかかる。このため、最近では $\text{NaBEt}_4$ が使われることが多い(Table 14)。 $\text{NaBEt}_4$ によるエチル化に関してはRapsomanikis<sup>100)</sup>による総説が参考になる。操作は非常に簡単で、例えば海水中の有機スズをエチル化する場合には、海水250 mlにTris-酢酸緩衝液を加えてpH6に調整後、イソオクタン1 mlと2%  $\text{NaBEt}_4$  0.1 mlを添加する[注意:  $\text{NaBEt}_4$ は空気に触れると自然発火するので試薬調製はグローブボックスで行うこと。試薬の付着したティッシュペーパー等は空気に触れる前に水に浸して処理すること]。磁気かき混ぜ機で30分間激しくかき混ぜてエチル化と抽出を同時に行った後、静置してイソオクタン相を分取し、GCへの注入試料とする<sup>90)</sup>。有機スズはpH4~7の広い範囲(最適値はpH5~7)でエチル化され、これは有機鉛<sup>94)</sup>や水銀化合物のpH4~7<sup>96)</sup>とも重なる。従ってpH5前

Table 14 Ethylation with sodium tetraethylborate

Species	Sample	Derivatization medium	Ref.
TBT, DBT, MBT, DMT, TPrT	seawater	Tris-acetic acid (pH 6~7)	90
TBT, DBT, MBT	sediment	acetate buffer (pH 4.1)	91
TBT, DBT, MBT, TPhT	fish, mussel	acetate buffer (pH 5)	92
13 organotins such as TMT, TBT and TPhT. TML, MeHg etc.	sediment	acetate buffer (pH 5±0.5)	80
10 organotins such as TMT, TBT and TPhT	river water sediment, fish, particulate matter	acetate buffer (pH 4)	93
TMT, DMT, MMT, MeHg, Hg <sup>II</sup> , TML, DMT	river water	acetate buffer (pH 5)	88
TBT, DBT, MBT	sediment	acetate buffer (pH 5)	89
TML, DML	water	acetate buffer (pH 4.1)	94
TML	water, road dust	ammonia-citrate buffer (pH 5~8)	95
MeHg	water	acetate buffer (pH 4.9)	96
MeHg	fish	acetate buffer (pH 4.5)	97
Se <sup>IV</sup> , Se <sup>VI</sup>	river water	4 M HCl	98
Cd <sup>2+</sup>	seawater, tea infusion	0.1 M HCl	99
review	—	—	100

後で一度に誘導体化が可能である。NaBEt<sub>4</sub>によるエチル化は干渉が少なく<sup>98)</sup>、又生成物であるアルキル誘導体は水素化物に比べて安定性が高い。

底質中の有機スズに関しては、TBTとDBTは比較的高い抽出率が得られるが、MBTは非常に低い。Chauら<sup>101)</sup>は、10種類の抽出法を比較したが、TBTの回収率が90%以上のものは10のうち三つだけで、MBTで満足な値が得られた方法は一つもなかった。最近報告された中でMBTの添加回収率が最も高いのは、1) トロポロンをキレート剤としてトルエン等の少し極性のある溶媒に抽出する方法と<sup>102)</sup>、2) NaBEt<sub>4</sub>でエチル化して抽出する方法<sup>89)</sup>である。1)の方法では、乾燥粉末試料2gを氷酢酸20ml、水20ml、NaCl8g、トルエン(含0.3%トロポロン)15mlを添加し、磁気かき混ぜ機で1時間かき混ぜる。トルエン相のうち7.5mlを分取し、窒素気流中で乾燥する。これをヘキサン1mlに再溶解した後、Grignard試薬でエチル化する。過剰のGrignard試薬は硫酸で分解し、又底質由来の着色成分と過剰のトロポロンはシリカゲルカラムに通した後、5mlのヘキサンで有機スズを溶出して分離する。これを窒素気流中で1mlまで濃縮して試料溶液とする。この方法でMBTの添加回収率は84.7±6.3%、又他の有機スズでも80~100%(但しメチル体は揮散するため低い)の値が得られた。NRCCの標準底質試料PACS-1に適用した場合、MBTは1.03±0.01 μgSn g<sup>-1</sup>(保証値の0.28±0.17 μgSn g<sup>-1</sup>は抽出法が適切でないため正しくない)と最も高い値、すなわち高い回収率が

得られている。

一方、2)の方法では乾燥粉末試料0.1~0.2gに酢酸(1+1)10mlを添加し、3分間60Wのマイクロ波を照射して酸による溶出を行う。上澄み液を分取し、これに1M酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH5)を10ml、アンモニア5ml、1%NaBEt<sub>4</sub>1ml、イソオクタン1mlを添加し、5分間振り混ぜてエチル化と抽出を行う。酢酸は底質表面の炭酸塩を溶かして試薬を内部に浸透させるために必要である(酢酸の代わりに塩酸も使われるが、Cl<sup>-</sup>のほうが求核性が強いのでマイクロ波照射下ではSn-Cの結合が切れる恐れがある)。上澄み液ではなく、底質共存下でのエチル化も報告されているが<sup>93)</sup>、溶媒量やNaBEt<sub>4</sub>濃度が低いと有機スズが底質に吸着して回収率が極端に低下する。上澄み液を用いた場合にはTBT, DBT, MBTともすべて98~102%の添加回収率が得られた。PACS-1の分析値は0.76±0.05 μgSn g<sup>-1</sup>と比較的高い値が得られている。1)の方法と比べると添加回収率は高いが、PACS-1の値は低い。これは後から添加したものと、元々存在したものでは存在状態が異なるためと考えられる。生物試料の抽出では、酢酸による溶出の代わりに水酸化テトラメチルアンモニウム(TMAH)による溶解が行われる。溶解後、pH5に調整して同様にエチル化と抽出を行う。

GC/ICP-MSの応用例として、水銀のメチル化速度を安定同位体を利用して測定する方法が報告されている<sup>81)</sup>。二つの安定同位体(A, B)を含む試料にBの濃縮安定同位体(スパイクという)を添加したとき生成す

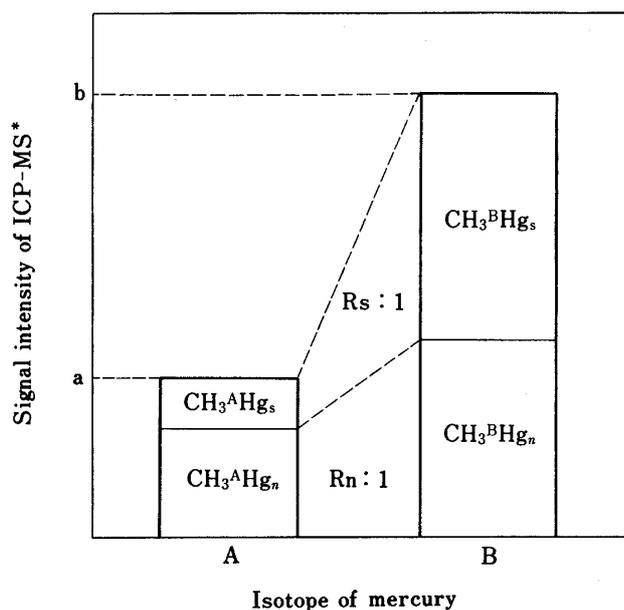


Fig. 6 Generation of methylmercury from native and spiked inorganic mercury in a sediment sample \*after mass discrimination.

るメチル水銀は、Fig. 6 に示すように元々試料中にあった無機水銀がメチル化したものと、スパイク中の無機水銀がメチル化したものの合計である。図の  $\text{CH}_3^{\text{A}}\text{Hg}_n$ ,  $\text{CH}_3^{\text{B}}\text{Hg}_n$ ,  $\text{CH}_3^{\text{A}}\text{Hg}_s$ ,  $\text{CH}_3^{\text{B}}\text{Hg}_s$  は各々、試料の同位体 A から生成したメチル水銀、試料の同位体 B から生成したメチル水銀、スパイクの同位体 A から生成したメチル水銀、スパイクの同位体 B から生成したメチル水銀を意味する。ここで  $\text{CH}_3^{\text{A}}\text{Hg}_n/\text{CH}_3^{\text{B}}\text{Hg}_n$  の比は無機水銀の天然同位体比 ( $R_n$ ) に等しく、 $\text{CH}_3^{\text{A}}\text{Hg}_s/\text{CH}_3^{\text{B}}\text{Hg}_s$  の比はスパイク中の無機水銀の同位体比 ( $R_s$ ) に等しい。すなわち、 $\text{CH}_3^{\text{A}}\text{Hg}_n/\text{CH}_3^{\text{B}}\text{Hg}_n = R_n$  (式 1),  $\text{CH}_3^{\text{A}}\text{Hg}_s/\text{CH}_3^{\text{B}}\text{Hg}_s = R_s$  (式 2) となる ( $R_n$ ,  $R_s$  は既知の値)。又、図より  $\text{CH}_3^{\text{A}}\text{Hg}_n + \text{CH}_3^{\text{A}}\text{Hg}_s = a$  (式 3),  $\text{CH}_3^{\text{B}}\text{Hg}_n + \text{CH}_3^{\text{B}}\text{Hg}_s = b$  (式 4) となる ( $a$ ,  $b$  は実測値)。従ってこの 4 連方程式を解けば  $\text{CH}_3^{\text{A}}\text{Hg}_n$ ,  $\text{CH}_3^{\text{B}}\text{Hg}_n$ ,  $\text{CH}_3^{\text{A}}\text{Hg}_s$ ,  $\text{CH}_3^{\text{B}}\text{Hg}_s$  が求まるので、元の試料中の無機水銀やスパイク中の無機水銀のメチル化速度を個別に測定できる。この方法で検出可能な最小メチル化速度は同位体比の測定精度によって決まる。具体例として、全水銀  $300 \text{ ng g}^{-1}$  とメチル水銀  $300 \text{ pg g}^{-1}$  を含む試料があるとすると、この中には  $\text{CH}_3^{202}\text{Hg}^+$  ( $89.4 \text{ pg g}^{-1}$ ) と  $\text{CH}_3^{199}\text{Hg}^+$  ( $50.5 \text{ pg g}^{-1}$ ) が含まれることになる。本法の同位体比測定精度を  $\sigma$  (約 1%) として、天然の比から  $3\sigma$  変化する量を検出可能な最小メチル水銀量とする

と、これは  $\text{CH}_3^{199}\text{Hg}^+$   $1.5 \text{ pg g}^{-1}$  の増加に相当する。仮に試料に  $^{199}\text{Hg}$  を  $2 \text{ ng g}^{-1}$  添加し、その 0.1% がメチル化すれば  $2 \text{ pg g}^{-1}$  の増加となるためこれを十分検出できる。  $2 \text{ ng g}^{-1}$  という量は放射性元素を用いてメチル化速度を求めるときの必要量より 2~3 けた低い値である。高濃度の水銀を添加すると耐水銀性の微生物が生息しやすい環境に変化するおそれがあるが、本法ではそのような欠点がない。実試料として底質試料を用いた場合、メチル化速度はスパイク中の水銀のほうが元の試料中の水銀よりも大きかった。存在状態が同じならば両者の速度は同じはずだが、スパイク添加後 20 日間経過しても差が見られた。このように両者のメチル化速度を測定できる点は放射性元素にはない特長である。

##### 5 キャピラリー電気泳動/誘導結合プラズマ質量分析法 (CE/ICP-MS) (Table 15)

キャピラリー電気泳動法 (CE) は、無機イオンから生体高分子まで様々な分子を高分解能で、比較的短時間に分離する方法として急速に発展しているが、CE のオフカラム検出器としての原子スペクトル分析法の利用は始まったばかりである。最初に検討されたのは He MIP-AES<sup>107)</sup> で原理的に元素選択的検出法としての有用性が示されたが、検出限界はトリメチルスズで  $1000 \mu\text{g ml}^{-1}$  と非常に高かった。CE との結合で大切な点は、CE の電気回路を閉じること、電気浸透流を乱さずに霧化することの 2 点である。この論文では CE のキャピラリーと試料導入用のキャピラリーを Nafion 陽イオン交換チューブ (長さ 3 cm, 外径 0.51 mm, 内径 0.33 mm) を用いて接続し導通をとっているが、霧化の方法は不明である。ICP-MS との結合は 1995 年に Olesik らにより行われたが<sup>103)</sup>、上記の点を満たすため、silver paint を塗った CE のキャピラリーを同軸型のニューマティックネブライザーの中心管に差し込み、silver paint を 0 V に接地している。導通は silver paint と CE の緩衝液が接触するネブライザー先端部で行われる。この方法では Ag の汚染が起こる。又、ニューマティックネブライザーによる吸引力のため、流量が  $2 \mu\text{l min}^{-1}$  と電気浸透流 ( $51 \text{ nl min}^{-1}$ ) の 40 倍ほどあり、しかもシーフロー方式ではないため電気浸透流が乱れ、ピーク幅が 8~15 秒 (FWHM) と分離度がかなり低下している。逆に流量が大きい分、分離時間が短縮されている。フリーの  $\text{Cu}^{2+}$  と EDTA 錯体  $\text{Cu}(\text{EDTA})^{2-}$  を分離した結果、両者の割合は MINTEQA2 平衡モデル<sup>108)</sup> の計算結果とよく一致している。CE のカラム内ではフリーの金属と金属錯体の相対的な濃度は分離が進むにつれて

Table 15 Speciation by CE/ICP-MS

Element	Species	Sample introduction	Detection limit	Comments	Ref. (year)
Fe	Fe <sup>3+</sup> , Fe <sup>2+</sup> , Fe(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> etc.	PN	5~300 fg	electroosmotic flow, 51 nl min <sup>-1</sup> . aspiration rate by PN, ~ 2 μl min <sup>-1</sup> . no sheath flow. electrical contact was made with conducting Ag paint. measurement of stability constant of metal-ligand complexation.	103 (1995)
Cr	Cr(OH) <sub>3</sub> , Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup> etc.				
Sn	Sn <sup>4+</sup> , Sn <sup>2+</sup>				
As	HAsO <sub>2</sub> , HAsO <sub>4</sub> <sup>-</sup>				
Cu	Cu <sup>2+</sup> , Cu(EDTA) <sup>2-</sup>				
Sr	Sr <sup>2+</sup> , Sr(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>				
As	As <sup>V</sup> , As <sup>III</sup> , MMA, DMA	DIN	20~300 pg ml <sup>-1</sup>	electroosmotic flow, 100 nl min <sup>-1</sup> . an electrolyte sheath (15 μl min <sup>-1</sup> ) was used for electrical contact. DIN did not cause suction or back pressure, and band broadening during the CE run.	104 (1995)
Se	Se <sup>VI</sup> , Se <sup>IV</sup>				
Fe Cd	ferritin metallothionein	PN	184 fg 4 fg	an electrolyte sheath was used for electrical contact. negative reservoir pressure (-25 mbar) was applied to counterbalance nebulizer suction to restore resolution.	105 (1995)
Cr	Cr(OH) <sub>2</sub> <sup>+</sup> , Cr(OH) <sup>2+</sup> , Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup>	PN (high-efficiency)	no data	an electrolyte sheath was used for electrical contact. analysis time and resolution were controlled by regulating the sheath flow.	106 (1996)

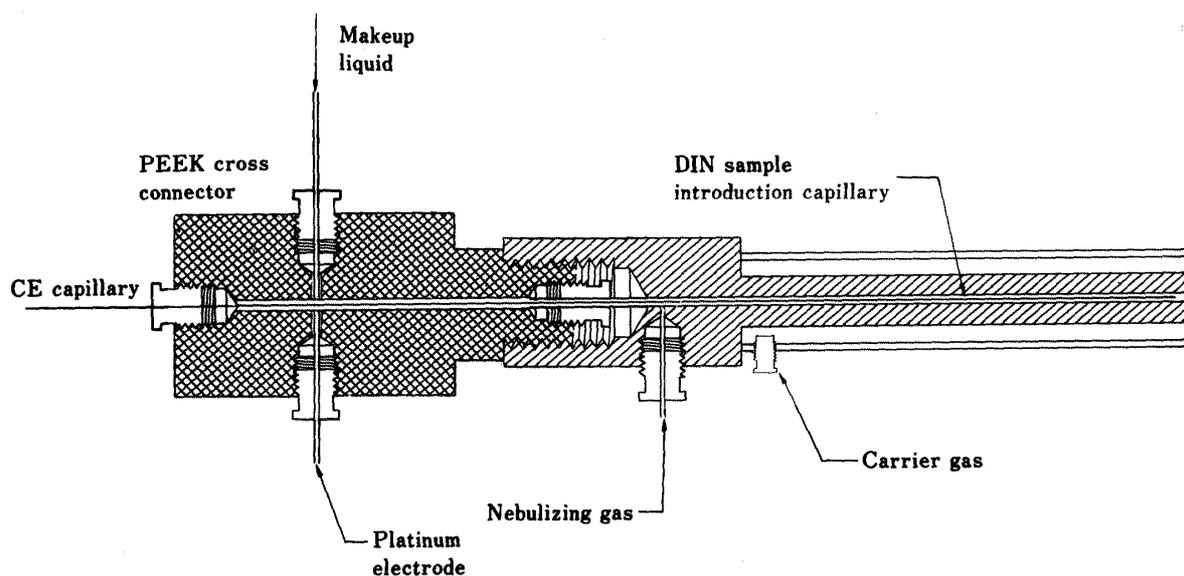


Fig. 7 Block diagram of the CE/ICP-MS interface

Reproduced by permission of the American Chemical Society, from ref. 104.

変わるため、平衡がずれて二つの化学種の移動度の加重平均の位置に一つのピークとして現れるはずだが、Cu(EDTA)<sup>2-</sup>は解離速度が遅いためCu<sup>2+</sup>と分離されたと考えられる。しかし、安定度が小さいはずのSr<sup>2+</sup>/Sr-

(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>やFe<sup>3+</sup>/FeCl<sub>2</sub><sup>+</sup>の系でも計算通りに二つのピークが現れるのは驚きであると述べられている。

Barnesら<sup>105)</sup>も、同軸型のネブライザーを用いているが、電気浸透流の乱れを少なくするためシースフロー方

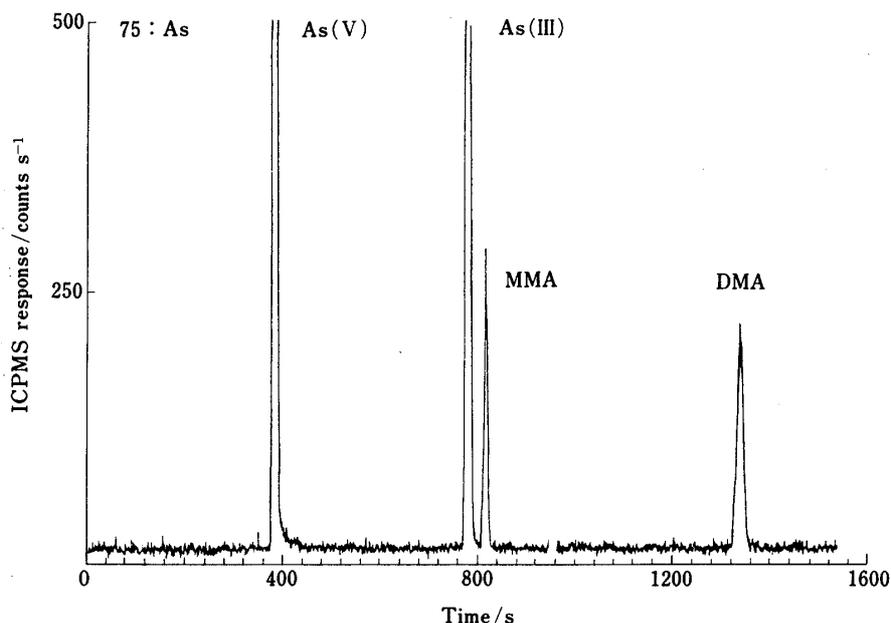


Fig. 8 CE/DIN-ICP-MS electropherogram obtained for a test sample containing  $\text{As}^{\text{III}}$ ,  $\text{As}^{\text{V}}$ , MMA, and DMA at  $500 \text{ ng ml}^{-1}$

Reproduced by permission of the American Chemical Society, from ref. 104.

式とし、かつ試料注入側のバイアルを減圧にしてネブライザーによる吸引力とのバランスをとっている。

現時点で CE と ICP-MS のインターフェースとして最も成功しているのは DIN である<sup>104)</sup> (Fig. 7)。CE のキャピラリー (内径  $50 \mu\text{m}$ , 外径  $100 \mu\text{m}$ ) を DIN のキャピラリー (内径  $125 \mu\text{m}$ , 外径  $175 \mu\text{m}$ ) に差し込み、両キャピラリー間にシースフロー溶液 (2%  $\text{HNO}_3$ ) を  $15 \mu\text{l min}^{-1}$  で流す。導通はシースフロー溶液に浸した Pt 電極で行われる。CE キャピラリーの出口以降のデッドボリュームは約  $18 \mu\text{l}$  で、ここでのピークの広がり是非常に小さい。又、DIN による吸引力やバックプレッシャーの影響は見られない。この方法で得られた As の化学種のエレクトロフェログラムを Fig. 8 に示したが、Fig. 2 の LC のものと比べて各ピークが非常にシャープである。図から分かるように化学種間で感度に大きな差があるが、その原因については記述されていない。CE/MS で使われているエレクトロスプレーやイオンスプレーは CE/ICP-MS ではまだ検討されていない。通常 ICP は 0 V に接地されているので、エレクトロスプレーとの間で放電して使えないためと考えられるが、高分解能型の ICP-MS の中には ICP が高電位に浮いたものもあるので、むしろ結合は容易かもしれない。CE では試料導入量が小さいため濃度換算の検出限界は悪くなるが、それでも四重極型の ICP-MS で  $20 \text{ pg ml}^{-1}$  の値

が得られている。生体高分子は SEC よりも CE のほうが分離度が高いものが多いため、今後 CE やミセル動電クロマトグラフィー (MEKC) の利用が広がるものと考えられる。

## 6 おわりに

環境科学や生命科学の分野では、エレメンタルスペシエーションの重要性が今後も増えていくと考えられる。分析試料数の増加は既に分析する者にかかなりの負担となっているが、将来は更なる増加が予想される。一方では新しい分析法の開発や分析操作の自動化により、分析ユーザーにとっては分析法の選択肢が広がる状況が生まれるため、分析方法どうしの競争が激しくなり、感度、信頼性、効率性に優れた方法しか生き残れないと考えられる。ここに記述した LC/ICP-MS, GC/ICP-MS, CE/ICP-MS も将来は LC/MS, GC/MS, CE/MS<sup>109)</sup> に対する優位性を問われるであろう。ICP を用いない方法では分子情報だけでなく原子情報も得られ、現に有機スズなどは GC/MS でも分析されている<sup>110)~112)</sup>。現時点では GC/ICP-MS のほうが 2 けたほど高感度であるが、将来は GC/MS の感度が現在の GC/ICP-MS 程度に向上することも考えられる。一方、ICP だけでなく LC も使わずに、エレクトロスプレーと MS を直結してスペシエーションを行う方法も報告されてい

る<sup>113)114)</sup>。これも現時点では ICP を用いる方法に比べて 2~3 けた感度が悪いが<sup>115)</sup>、イオン化効率が急速に向上する可能性もある。従って ICP を用いることの優位性は、高感度性よりもむしろ robustness (丈夫さ)にあると考えられる。ICP を用いない方法は、標準溶液のような単純な組成の試料に対しては十分な性能を發揮できるが、環境試料や生物試料のような複雑なマトリックスに対しては、前処理に多大の労力と時間を費やさねばならない。ICP を用いる方法はマトリックスの干渉が少なく、信頼性が高い点に特長がある。

効率性の面から、高価な ICP-MS を連続噴霧の溶液分析にのみ用いるのはコストパフォーマンスが低い。1 台のプリンターに何台ものコンピュータを接続するように、ICP-MS にも GC や CE を結合するためのインターフェースをモジュールのように容易に交換できるシステムが望ましい。又、現時点では 1 回の分析に LC では数十分、GC でも 10 分程度要しているのを、これを大幅に短縮することが重要と思われる。例えば、「10 元素、計 100 種類の化学種を 1 分間で分析する」といった夢を実現するためには、30 秒程度で分離が可能な High-speed GC<sup>116)117)</sup>、フォトダイオードアレイを用いた多元素同時測定用の MS や飛行時間型の MS<sup>118)</sup>、高速データ処理ソフトウェア等の開発が望まれる。又、高効率で迅速な抽出や試料前処理を可能とする新しいケミストリーの発見とその自動化も重要である。これらの技術が基盤となって、超微量のマルチエレメンタルスベシエーションが実現されるものと期待される。

## 文 献

- 1) R. S. Houk, V. A. Fassel, G. D. Flesch, H. J. Svec, A. L. Gray, C. E. Taylor: *Anal. Chem.*, **52**, 2283 (1980).
- 2) L. Ebdon, S. Hill, R. W. Ward: *Analyst* (London), **111**, 1113 (1986).
- 3) L. Ebdon, S. Hill, R. W. Ward: *Analyst* (London), **112**, 1 (1987).
- 4) S. J. Hill, M. J. Bloxham, P. J. Worsfold: *J. Anal. At. Spectrom.*, **8**, 499 (1993).
- 5) N. P. Vela, J. A. Caruso: *J. Anal. At. Spectrom.*, **8**, 787 (1993).
- 6) O. F. X. Donard, F. M. Martin: *Trends Anal. Chem.*, **11**, 17 (1992).
- 7) R. Lobinski, F. C. Adams: *Trends Anal. Chem.*, **12**, 41 (1993).
- 8) 一色健司: ぶんせき (*Bunseki*), **1995**, 645.
- 9) N. P. Vela, L. K. Olson, J. A. Caruso: *Anal. Chem.*, **65**, 585A (1993).
- 10) E. H. Larsen, S. Sturup: *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 1099 (1994).
- 11) W. Pretorius, M. Foulkes, L. Ebdon, S. Rowland: *J. High Res. Chromatogr.*, **16**, 157 (1993).
- 12) D. Heitkemper, J. Creed, J. Caruso, F. L. Fricke: *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**, 279 (1989).
- 13) Y. Shibata, M. Morita: *Anal. Sci.*, **5**, 107 (1989).
- 14) D. Beauchemin, M. E. Bednas, S. S. Berman, J. W. McLaren, K. W. M. Siu, R. S. Sturgeon: *Anal. Chem.*, **60**, 2209 (1988).
- 15) D. Beauchemin, K. W. M. Siu, J. W. McLaren, S. S. Berman: *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**, 285 (1989).
- 16) Y. Shibata, M. Morita: *Anal. Chem.*, **61**, 2118 (1989).
- 17) S. H. Hansen, E. H. Larsen, G. Pritzl, C. Cornett: *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 629 (1992).
- 18) S. C. K. Shum, R. Neddersen, R. S. Houk: *Analyst* (London), **117**, 577 (1992).
- 19) E. H. Larsen, G. Pritzl, S. H. Hansen: *J. Anal. At. Spectrom.*, **8**, 557 (1993).
- 20) E. H. Larsen, G. Pritzl, S. H. Hansen: *J. Anal. At. Spectrom.*, **8**, 1075 (1993).
- 21) S. Branch, L. Ebdon, P. O'Neill: *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 33 (1994).
- 22) J. R. Dean, L. Ebdon, M. E. Foulkes, H. M. Crews, R. C. Massey: *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 615 (1994).
- 23) S. L. Cleland, L. K. Olson, J. A. Caruso, J. M. Carey: *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 975 (1994).
- 24) S. C. K. Shum, R. S. Houk: *Anal. Chem.*, **65**, 2972 (1993).
- 25) P. Thomas, K. Sniatecki: *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**, 615 (1995).
- 26) S. A. Pergantis, E. M. Heithmar, T. A. Hinners: *Anal. Chem.*, **67**, 4530 (1995).
- 27) P. Bavazzano, A. Perico, K. Rosendahl, P. Apostoli: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 521 (1996).
- 28) M. L. Magnuson, J. T. Creed, C. A. Brockhoff: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 893 (1996).
- 29) 日本化学会編: “化学便覧, 改訂 4 版, 基礎編 II”, p. 317, (1993) (丸善).
- 30) Y. M. Liu, M. L. F. Sanchez, E. B. Gonzales, A. Sanz-Medel: *J. Anal. At. Spectrom.*, **8**, 815 (1993).
- 31) Y. Shibata, M. Morita, J. S. Edmonds: *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 391 (1987).
- 32) C. Huang, S. Jiang: *J. Anal. At. Spectrom.*, **8**, 681 (1993).
- 33) M. J. Campell, G. Vermeir, R. Dams, P. Quevauviller: *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 617 (1992).
- 34) A. Al-Rashdan, D. Heitkemper, J. A. Caruso: *J. Chromatogr. Sci.*, **29**, 98 (1991).
- 35) A. Al-Rashdan, N. P. Vela, J. A. Caruso, D. T. Heitkemper: *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 551 (1992).
- 36) S. C. K. Shum, H. Pang, R. S. Houk: *Anal. Chem.*, **64**, 2444 (1992).
- 37) A. A. Brown, L. Ebdon, S. J. Hill: *Anal. Chim. Acta*, **286**, 391 (1994).
- 38) H. Yang, S. Jiang: *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**, 963 (1995).

- 39) D. S. Bushee: *Analyst* (London), **113**, 1167 (1988).
- 40) M. J. Bloxham, A. Gachanja, S. J. Hill, P. J. Worsfold: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 145 (1996).
- 41) J. J. Thompson, R. S. Houk: *Anal. Chem.*, **58**, 2541 (1986).
- 42) K. L. Yang, S. J. Jiang: *Anal. Chim. Acta*, **307**, 109 (1995).
- 43) M. A. Quijano, A. M. Gutierrez, M. C. Perez-Conde, C. Camara: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 407 (1996).
- 44) R. M. Olivas, O. F. X. Donard, C. Camara, P. Quevauviller: *Anal. Chim. Acta*, **286**, 357 (1994).
- 45) H. Suyani, D. Heitkemper, J. Creed, J. A. Caruso: *Appl. Spectrosc.*, **43**, 962 (1989).
- 46) J. W. McLaren, K. W. M. Siu, J. W. Lam, S. N. Willie, P. S. Maxwell, A. Palepu, M. Koether, S. S. Berman: *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **337**, 721 (1990).
- 47) H. J. Yang, S. J. Jiang, Y. J. Yang, C. J. Hwang: *Anal. Chim. Acta*, **312**, 141 (1995).
- 48) Y. Inoue, K. Kawabata, Y. Suzuki: *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**, 363 (1995).
- 49) 郡 宗幸, 佐藤幸一, 井上嘉則, 井出邦和, 大河内春乃: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **44**, 537 (1995).
- 50) M. J. Tomlinson, J. Wang, J. A. Caruso: *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 957 (1994).
- 51) N. Jakubowski, B. Jepkens, D. Stuewer, H. Berndt: *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 193 (1994).
- 52) M. J. Powell, D. W. Boomer, D. R. Wiederin: *Anal. Chem.*, **67**, 2474 (1995).
- 53) F. A. Byrde, L. K. Olson, N. P. Vela, J. A. Caruso: *J. Chromatogr. A*, **712**, 311 (1995).
- 54) J. R. Dean, S. Munro, L. Ebdon, H. M. Crews, R. C. Massey: *J. Anal. At. Spectrom.*, **2**, 607 (1987).
- 55) H. M. Crews, J. R. Dean, L. Ebdon, R. C. Massey: *Analyst* (London), **114**, 895 (1989).
- 56) S. G. Matz, R. C. Elder, K. Tepperman: *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**, 767 (1989).
- 57) A. Z. Mason, S. D. Storms, K. D. Jenkins: *Anal. Biochem.*, **186**, 187 (1990).
- 58) K. Takatera, T. Watanabe: *Anal. Sci.*, **7**, 695 (1991).
- 59) L. M. W. Owen, H. M. Crews, R. C. Hutton, A. Walsh: *Analyst* (London), **117**, 649 (1992).
- 60) K. A. High, J-S. Blais, B. A. J. Methven, J. W. McLaren: *Analyst* (London), **120**, 629 (1995).
- 61) S. J. Jiang, R. S. Houk: *Spectrochim. Acta*, **43B**, 405 (1988).
- 62) K. G. Heumann, L. Rottmann, J. Vogl: *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 1351 (1994).
- 63) P. Smichowski, Y. Madrid, M. B. de la Calle Guntinas, C. Camara: *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**, 815 (1995).
- 64) K. Yoshida, H. Haraguchi, K. Fuwa: *Anal. Chem.*, **55**, 1009 (1983).
- 65) M. Morita, T. Uehiro: *Anal. Chem.*, **53**, 1997 (1981).
- 66) K. Yoshida, T. Hasegawa, H. Haraguchi: *Anal. Chem.*, **55**, 2106 (1983).
- 67) W. L. Shen, N. P. Vela, B. S. Sheppard, J. A. Caruso: *Anal. Chem.*, **63**, 1491 (1991).
- 68) N. P. Vela, J. A. Caruso: *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 971 (1992).
- 69) J. M. Carey, N. P. Vela, J. A. Caruso: *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 1173 (1992).
- 70) L. K. Olson, J. A. Caruso: *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 993 (1992).
- 71) U. T. Kumar, N. P. Vela, J. A. Caruso: *J. Chromatogr. Sci.*, **33**, 606 (1995).
- 72) J. C. Van Loon, L. R. Alcock, W. H. Pinchin, J. B. French: *Spectrosc. Lett.*, **19**, 1125 (1986).
- 73) N. S. Chong, R. S. Houk: *Appl. Spectrosc.*, **41**, 66 (1987).
- 74) G. R. Peters, D. Beauchemin: *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 965 (1992).
- 75) A. W. Kim, M. E. Foulkes, L. Ebdon, S. J. Hill, R. L. Patience, A. G. Barwise, S. J. Rowland: *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 1147 (1992).
- 76) A. Kim, S. Hill, L. Ebdon, S. Rowland: *J. High Res. Chromatogr.*, **15**, 665 (1992).
- 77) W. G. Pretorius, L. Ebdon, S. J. Rowland: *J. Chromatogr.*, **646**, 369 (1993).
- 78) L. Ebdon, E. H. Evans, W. G. Pretorius, S. J. Rowland: *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 939 (1994).
- 79) J. Feldmann, R. Grumping, A. V. Hirner: *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **350**, 228 (1994).
- 80) A. Prange, E. Jantzen: *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**, 105 (1995).
- 81) H. Hintelmann, R. D. Evans, J. Y. Villeneuve: *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**, 619 (1995).
- 82) 佐藤幸一, 郡 宗幸, 大河内春乃: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **45**, 575 (1996).
- 83) J. Feldmann, T. Riechmann, A. V. Hirner: *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **354**, 620 (1996).
- 84) S. M. Gallus, K. G. Heumann: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 887 (1996).
- 85) D. L. Windsor, M. B. Denton: *J. Chromatogr. Sci.*, **17**, 492 (1979).
- 86) J. M. Moldowan, P. Sundararaman, M. Schoell: *Org. Geochem.*, **10**, 915 (1986).
- 87) P. Sundararaman, W. R. Biggs, J. G. Reynolds, J. C. Fetzer: *Geochim. Cosmochim. Acta*, **52**, 2337 (1988).
- 88) M. Ceulemans, F. C. Adams: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 201 (1996).
- 89) J. Szpunar, V. O. Schmitt, R. Lobinski, J-L. Monod: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 193 (1996).
- 90) P. Michel, B. Averty: *Appl. Organomet. Chem.*, **5**, 393 (1991).
- 91) Y. Cai, S. Rapsomanikis, M. O. Andreae: *J. Anal. At. Spectrom.*, **8**, 119 (1993).
- 92) M. Ceulemans, C. Witte, R. Lobinski, F. C. Adams: *Appl. Organomet. Chem.*, **8**, 451 (1994).
- 93) J. Kuballa, R-D. Wilken, E. Jantzen, K. K. Kwan, Y. K. Chau: *Analyst* (London), **120**, 667

- (1995).
- 94) S. Rapsomanikis, O. F. X. Donard, J. H. Weber: *Anal. Chem.*, **58**, 35 (1986).
- 95) C. Witte, J. Szpunar-Lobinski, R. Lobinski, F. C. Adams: *Appl. Organomet. Chem.*, **8**, 621 (1994).
- 96) N. Bloom: *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **46**, 1131 (1989).
- 97) R. Fischer, S. Rapsomanikis, M. O. Andreae: *Anal. Chem.*, **65**, 763 (1993).
- 98) M. B. de la Calle Guntinas, R. Lobinski, F. C. Adams: *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**, 111 (1995).
- 99) M. C. V. Temprano, M. R. F. de la Campa, A. Sanz-Medel: *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 231 (1994).
- 100) S. Rapsomanikis: *Analyst* (London), **119**, 1429 (1994).
- 101) S. Zhang, Y. K. Chau, W. C. Li, A. S. Y. Chau: *Appl. Organomet. Chem.*, **5**, 431 (1991).
- 102) Y. K. Chau, F. Yang, R. J. Maguire: *Anal. Chim. Acta*, **320**, 165 (1996).
- 103) J. W. Olesik, J. A. Kinzer, S. V. Olesik: *Anal. Chem.*, **67**, 1 (1995).
- 104) Y. Liu, V. Lopez-Avila, J. J. Zhu, D. R. Wiederin, W. F. Beckert: *Anal. Chem.*, **67**, 2020 (1995).
- 105) Q. Lu, S. M. Bird, R. M. Barnes: *Anal. Chem.*, **67**, 2949 (1995).
- 106) J. A. Kinzer, J. W. Olesik, S. V. Olesik: *Anal. Chem.*, **68**, 3250 (1996).
- 107) Y. Liu, V. Lopez-Avila: *J. High Res. Chromatogr.*, **16**, 717 (1993).
- 108) U. S. Environmental Protection Agency Center for Exposure Assessment Modelling, Athens, GA, Equilibrium Metal Speciation Model 3.11, December 1991.
- 109) J. J. Corr, J. F. Anacleto: *Anal. Chem.*, **68**, 2155 (1996).
- 110) H. A. Meinema, T. B. Wiersma, G. V. Haan, E. Ch. Gevers: *Environ. Sci. Technol.*, **12**, 288 (1978).
- 111) M. D. Mueller: *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **317**, 32 (1984).
- 112) C. L. Matthias, J. M. Bellama, G. J. Olson, F. E. Brinckman: *Environ. Sci. Technol.*, **20**, 609 (1986).
- 113) G. R. Agnes, I. I. Stewart, G. Horlick: *Appl. Spectrosc.*, **48**, 1347 (1994).
- 114) I. I. Stewart, D. A. Barnett, G. Horlick: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 877 (1996).
- 115) F. B. Brown, L. K. Olson, J. A. Caruso: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 633 (1996).
- 116) M. Klemp, A. Peters, R. Sacks: *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 369A (1994).
- 117) R. Sacks, N. Akard: *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 428A (1994).
- 118) D. P. Myers, P. P. Mahoney, G. Li, G. M. Hieftje: *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, **6**, 920 (1995).

## 要 旨

誘導結合プラズマ質量分析法と各種の分離法（液体クロマトグラフィー，ガスクロマトグラフィー，超臨界流体クロマトグラフィー，キャピラリー電気泳動法）をオンラインで結合することにより，微量元素の化学種別分析を行う方法について，最近の進展と将来への展望を論じる．又，環境試料や生物試料中の有機金属化合物の抽出法や誘導体化法についても概説する．