

x vi. アクリルアミドの分析法

1 対象物質

アクリルアミド

2 目標検出下限値及び定量下限値

本分析法の目標検出下限値及び目標定量下限値を表 1 に示す。

表 1 目標検出限界値及び目標定量下限値

	水 質 (µg/L)		底 質 (µg/kg)
	目標検出 下限値	目標定量 下限値	目標検出下限値
アクリルアミド	0.02	0.06	0.5

3 分析法の概要

水質試料は、プレカラムとして C₁₈ カートリッジカラムを取りつけた活性炭カートリッジカラムに通水吸着後、メタノールで溶出させる。溶出液を濃縮後、キサントヒドロールを加えて誘導体化し、ジクロロメタンで抽出する。抽出液を脱水・濃縮し、GC/MS-SIM で定量する。底質試料は精製水で抽出し、以下水試料と同じ操作を行う。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・アクリルアミド (モノマー) : 市販化学用
- ・内標準物質 (クリセン-d₁₂) : 市販標準品
- ・キサントヒドロール (10%メタノール溶液) : 市販化学用
- ・メタノール、ヘキサン、ジクロロメタン : 残留農薬試験用試薬 (1000 以上)
- ・塩酸 : 有害金属測定用試薬
- ・無水硫酸ナトリウム : 残留農薬試験用試薬
- ・その他の試薬 : 特級試薬を用いる
- ・精製水 : (注 1)
- ・C₁₈ カートリッジカラム : 市販カートリッジカラム (注 2)。
- ・活性炭カートリッジカラム : 市販カートリッジカラム (注 3)。

- ・ガラス繊維ろ紙：市販ろ紙（注4）。

（2）器具及び装置

- ・吸引鐘：固相抽出時及びろ過時の吸引に用いる。
- ・真空計：固相抽出時の流速制御用
- ・ニードルバルブ：固相抽出時の流速制御用
- ・振とう器：生成誘導体の溶媒抽出用
- ・超音波洗浄機：試料の水抽出用
- ・遠心分離機：水抽出液の分離用
- ・ロータリーエバポレーター：抽出溶媒の濃縮用
- ・恒温水槽：誘導体化反応の温度制御用
- ・ガスクロマトグラフ／質量分析計（GC/MS）：GC はキャピラリーカラム対応のもの。
MS は二重収束型もしくは四重極型のもの。

5 試料の採取・運搬

（1）水質試料

水質試料については、洗剤、水、アセトンで洗浄したねじ口瓶を試料水で2～3回共洗った後、試料水を泡立てないように採水し、満水にして直ちに密栓し、直ちに試験を行う。直ちに試験できないときは、冷暗所（4℃）に保存し、速やかに試験を行う。

（2）底質試料

底質試料については、水質試料と同様の方法で洗浄したすり合わせの広口ガラスビンに入れ密栓し、-20℃以下で冷凍保存する。

なお、試料採取、運搬、調製にかかわる手順等の詳細は、本マニュアルの「Ⅲ．試料の採取、運搬、調製にかかわる一般事項」に従う。

6 試験操作

（1）前処理

（ア）水質試料

精製水で十分に洗浄したガラス繊維ろ紙を用い、試料 500 mL をろ過する。得られた試料ろ液を、プレカラムとして C₁₈ カートリッジカラム（注 5）を取り付けた活性炭カートリッジカラム（注 6）に流速 5 mL/min（注 7）で通過させる。活性炭カートリッジカラムを取り出し、精製水 10 mL を流速 5 mL/min 程度で通過させて洗浄する。通気して脱水した後、メタノール 5 mL を流速 5 mL/min 程度で通過させアクリルアミドを溶出させる。溶出液を 10 mL の共栓付き試験管にとり 40℃ に加温しながら窒素を吹きつけ 1 mL に濃縮する。これに 10% キサントヒドロール/メタノール溶液 100 μL と 3M 塩酸 1 滴を加えて密栓し、よく振り混ぜる（注 8）。この試験管を 40℃ の恒温水槽中に入れ、時々振り混ぜながら 2 時間放置する。誘導体化終了後、精製水 10 mL を反応溶液に加えて振り混ぜ、精製水 70 mL を入れた分液ロートに流し込む。反応容器を精製水 10 mL で洗浄、次に 10 mL のジクロロメタンで 2 度洗浄し、これらの洗液も分液ロートに入れる。分液ロートを 5 分間激しく振とうし、静置後、ジクロロメタン層を分取する。水層に再度ジクロロメタン 20 mL を加えて抽出を行う。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し、試料前処理液とする。

（イ）底質試料

底質試料 20 g（湿重量）を 200 mL 遠沈管に採取し、精製水 150 mL を加え、スパチュラで試料を十分に分散させた後、15 分間超音波抽出を行う。これを 2500 rpm で 10 分間遠心分離し、上澄み液を水抽出液として分取する。以下、水質試料と同様に操作し、試料前処理液を得る。

（2）試料液の調製

（ア）水質試料

試料前処理液を 35℃ の湯浴中でロータリーエバポレーターを用いて約 5 mL 程度まで濃縮する。これを濃縮用受器に移し、10 μg/mL の内標準溶液（クリセン-d₁₂ のヘキサン溶液）を正確に 25 μL 添加した後、窒素ガスを吹きつけ 1 mL の定容とし試料液とする。

（イ）底質試料

水質試料と同様の操作を行い試料液を得る。

(3) 空試験液の調製

(ア) 水質試料

500 mL の精製水を用い、「前処理」及び「試料液の調製」と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

(イ) 底質試料

150 mL の精製水を用い、「前処理」及び「試料液の調製」と同様に操作して得られる液を空試料液とする。

(4) 添加回収試験液の調製

水質試料では任意の試料水 500 mL、底質試料では任意の試料 20 g (湿泥) にアクリルアミドの標準液 (水溶液) を検出限界の 5~10 倍量加え、十分に混合した後、「前処理」及び「試料液の調製」に従って操作を行い、得られた試料液を添加回収試験液とする (注 9)。

(5) 標準液の調製

アクリルアミドの標準品 10 mg を正確にメスフラスコ (100 mL) に秤り取り、精製水を加えて全量を 100 mL とし、アクリルアミド標準品原液 (100 µg/mL) を調製する。標準品原液を精製水で希釈し、25 µg/mL の標準品溶液を調製する。

内標準物質 (クリセン-d₁₂) 10 mg をメスフラスコ (100 mL) に正確に秤り取り、ヘキサンを加えて 100 mL とし、内標準原液とする。内標準原液をヘキサンで希釈し、10 µg/mL の内標準溶液を調製する。

メタノール 1 mL を入れた、容量 10 mL の共栓付き試験管を調製する標準液の個数分用意し、標準溶液 10~40 µL を段階的にそれぞれ添加する。次いで、10%キサントヒドロール/メタノール溶液 100 µL と 3M 塩酸 1 滴を加えて密栓してよく振り混ぜる。以下、「前処理」の該当部分及び「試料液の調製」と同様の操作を行い、各標準液を得る。

(6) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例

- ・カラム：溶融シリカキャピラリーカラム (内径 0.25 mm、長さ 30 m)
- ・液相：5%フェニルメチルシリコン、膜厚は 0.25 µm

- ・ カラム温度：40°C（2分）→ 20°C/分 → 300°C（5分）
- ・ 注入口温度：250°C
- ・ 注入法：スプリットレス（1.5分後パージ），1 μL 注入
- ・ キャリアガス：ヘリウム（カラム流速は 2.1 mL/分）
- ・ MS インターフェース温度：250°C
- ・ イオン化法：EI
- ・ イオン化電圧：70 eV
- ・ イオン源温度：250°C
- ・ イオン化電流：300 μA
- ・ 検出モード：SIM
- ・ 測定イオン

定量用：m/z 251、確認用：m/z 207、m/z 234

内標準（クリセン-d₁₂）：m/z 240

（イ）検量線

各標準液（内標準濃度：250 ng/mL）1 μL を GC/MS に注入し、標準品誘導体と内標準物質のピーク面積比から検量線を作成する。

（ウ）試料液の測定

検量線作成後、空試験液、測定用試料液、及び添加回収試験液の各 1 μL を GC/MS に注入して測定を行う。一定時間ごとに、検量線の間濃度の標準液を測定し、期待値の 20% 以内の変動であることを確認する。もし、この範囲を外れた場合は、GC/MS を再調整後、検量線を作成し直して、測定を再開する。

7 同定・定量及び計算

（1）同定

GC/MS の測定結果から、定量用及び確認用モニターイオンが予想保持時間に観察されたものについて、定量と計算を行う。

（2）定量及び計算

誘導体と内標準物質のピーク面積比を求め、上記の検量線に照らしてアクリルアミドの検出量を求める。次に、検出量と分析試料量から次式により試料中の濃度を計算する。なお、底質の試料量は乾燥試料量とする。

$$\text{水質試料濃度 (}\mu\text{g/L)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \div \text{試料量 (L)}$$

$$\text{底質中濃度 (}\mu\text{g/L)} = \text{検出量 (}\mu\text{g)} \div \text{試料量 (kg)}$$

8 分析精度管理

本マニュアルの「II. 分析精度管理」に従い、標準作業手順を設定し、器具・装置の性能評価と維持管理を徹底し、その結果を記録しなければならない。

9 注意事項

- (注1) Milli-Q SP.TOC.超純水製造装置（ミリポア社製）による精製水と同等以上の精製水（備考1）。
- (注2) ここでは、ウォーターズ社製セップパックプラス C₁₈（充填剤量 360 mg）を用いた（備考1）。
- (注3) ここでは、ウォーターズ社製セップパック AC-2（充填剤量 400 mg）を用いた（備考1）。
- (注4) ここでは、アドバンテック東洋社製 GA100（55 mm φ）を用いた（備考1）。
- (注5) 使用直前にメタノール 5 mL、次いで精製水 10 mL でコンディショニングする。
- (注6) 使用直前にアセトン 10 mL、次いで精製水 10 mL でコンディショニングする。
- (注7) 固相抽出時のカートリッジカラム内の流速は、厳密に 5±0.5 mL/min とする。
- (注8) 密栓が不完全であると反応中に反応溶液の損失が生じ測定値が低くなる。
- (注9) 添加回収試験は、試料と同じあるいは類似の試料に対象物質であるアクリルアミドの水標準液を検出限界の 5～10 倍量添加して行う。但し、対象物質が添加回収用試料に添加量と比べて無視できない量含まれている場合は、同程度の濃度になるよう対象物質の添加量を増やして試験を行う。

(備考1) ここに示す商品は、本マニュアル使用者の便宜のために、一般に入手できるものとして掲げたが、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能

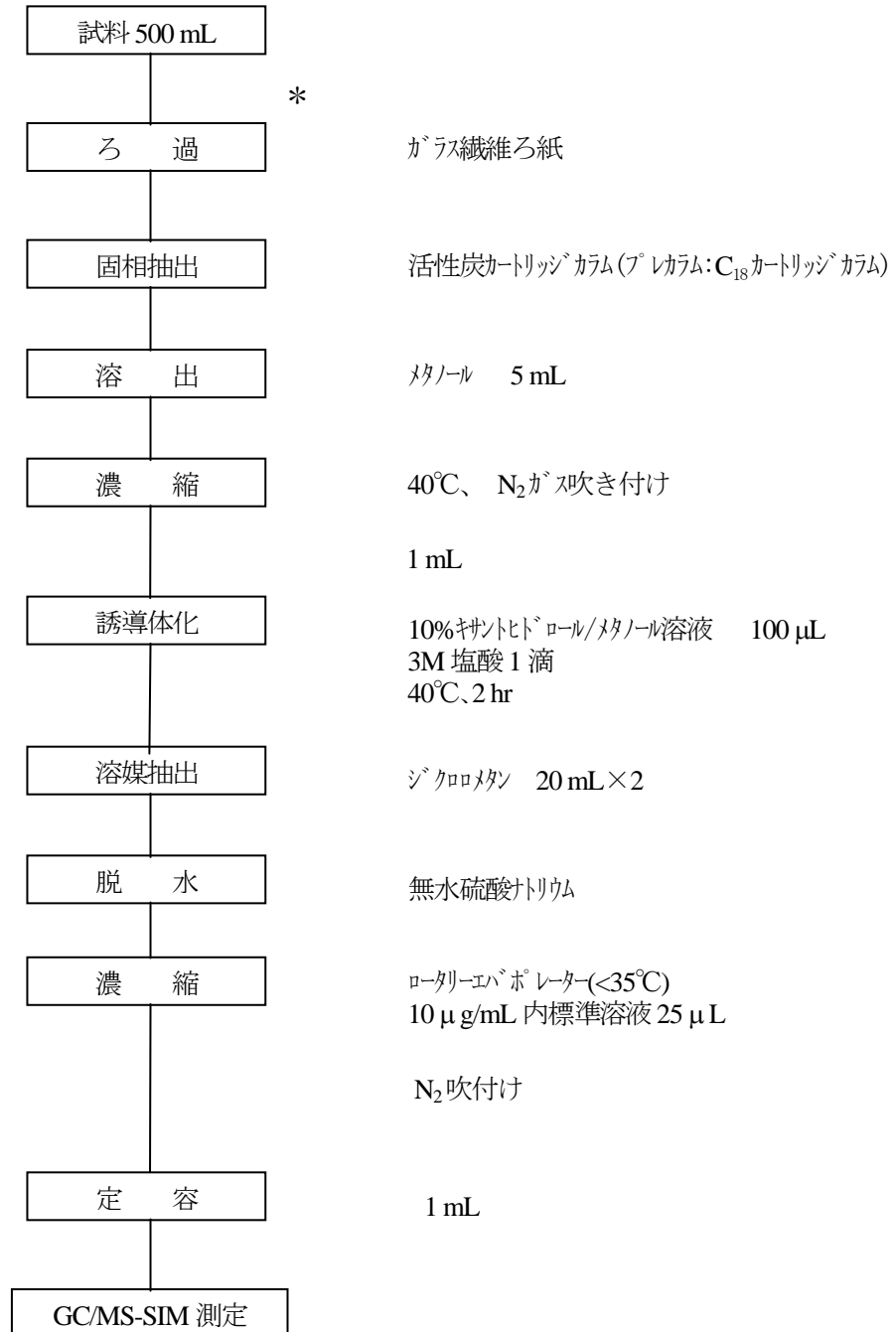
のものを用いてもよい。

参考文献

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室：「平成9年度化学物質分析法開発調査報告書」、pp78-97、
(愛知県環境調査センター) (1998)

分析法フローチャート

水質試料



底質試料

