

iv. 水溶性物質の分析法（固相マイクロ抽出法、SPME法）

1 対象物質

本分析法の対象物質及びその物理化学的性質を表1に示す。

表1 対象物質及びその物理化学的性質

物質名	CAS RN	分子式	沸点℃	蒸気圧 mmHg	水溶解度	Log Pow
アセトニトリル	75-05-8	C ₂ H ₃ N	82	87	混合	-0.34
アクリロニトリル	107-13-1	C ₃ H ₃ N	77.3	100	7.5%	0.25
メタクリロニトリル*	126-98-7	C ₄ H ₅ N	90	71.2	2.6%	—
1-プロパノール	71-23-8	C ₃ H ₈ O	97	20.8	混合	0.25
2-プロパノール	67-63-0	C ₃ H ₈ O	82.5	44	10%以上	0.05
1-ブタノール	71-36-3	C ₄ H ₁₀ O	117	5.5	9.1%	0.88
アリルアルコール	107-18-6	C ₃ H ₆ O	96	23.8	10%以上	0.17
2-メトキシエタノール	109-86-4	C ₃ H ₈ O ₂	125	6.2	混合	-0.77
2-エトキシエタノール	110-80-5	C ₄ H ₁₀ O ₂	135	5.31	混合	-0.32
2-ブトキシエタノール	111-76-2	C ₆ H ₁₄ O ₂	171	0.88	混合	0.83
2-エトキシエチルアセテート	111-15-9	C ₆ H ₁₂ O ₃	156	2.34	22.9%	—
2-メトキシエチルアセテート*	110-49-6	C ₅ H ₁₀ O ₃	144	2	混合	—
N,N-ジメチルホルムアミド	68-12-2	C ₄ H ₇ NO	153	3.7	混合	-0.01
アリルグリシジルエーテル	106-92-3	C ₆ H ₁₀ O ₂	154	4.7	14.1%	—
1,4-ジオキサン	123-91-1	C ₄ H ₈ O ₂	101.1	37	混合	-0.27
ピリジン	110-86-1	C ₅ H ₅ N	115	20	混合	0.62 - 0.78
アクリル酸メチル	96-33-3	C ₄ H ₆ O ₂	80.5	86.6	4.94%	0.80
アクリル酸エチル	140-88-5	C ₅ H ₈ O ₂	99.4	38.6	1.5%	1.32
アクリル酸ブチル	141-32-2	C ₇ H ₁₂ O ₂	145	5.45	0.14%	2.36
アクリル酸2-ヒドロキシエチル	818-61-1	C ₅ H ₈ O ₃	191	0.0523	混合	-0.21
エピクロロヒドリン	106-89-8	C ₃ H ₅ ClO	116.5	10	6.5%	0.26
ジメチルスルホキシド	67-68-5	C ₂ H ₆ OS	189	0.42	混合	-2.03
アジポニトリル*	111-69-3	C ₆ H ₈ N ₂	295	0.00068	8%	-0.32
α-ピコリン	109-06-8	C ₆ H ₇ N	128	11.2	混合	1.11
β-ピコリン	108-99-6	C ₆ H ₇ N	143	6.05	混合	1.2
γ-ピコリン	108-89-4	C ₆ H ₇ N	145	5.77	混合	1.22

*は、PRTR 対象物質。

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2に示す（注1）。

表2 目標検出下限値及び目標定量下限値

水質 (µg/L)		底質 (µg/kg dry)	
目標検出下限値	目標定量下限値	目標検出下限値	目標定量下限値
0.05	0.15	1	3

3 分析法の概要

水質試料は、サロゲート物質及び塩析剤を飽和量加えて溶解後、固相マイクロ抽出を行い、キャピラリーGC/MS-SIM で定量する。底質試料は、サロゲート物質及び精製水を加えて超音波抽出後、遠心分離により水層を回収し、以下水質試料と同様に操作して定量する。

4 試薬、器具及び装置

(1) 試薬

- ・対象物質：特級試薬
- ・サロゲート物質（アセトニトリル-d₃、アクリロニトリル-d₃、1,4-ジオキサン-d₈、1-ブタノール-d₉及びピリジン-d₅）：市販標準試薬
- ・アセトン：残留農薬試験用
- ・精製水：市販のミネラルウォーター。対象物質を含まないものが望ましいが、現実には入手が困難であるため、できるだけ汚染の少ない水を購入する（注2）。
- ・塩化ナトリウム、炭酸カリウム（注3）：特級試薬を500℃で8時間焼いたもの。
- ・ODS又はポリスチレン樹脂充填カートリッジカラム：市販カートリッジカラム

(2) 器具及び装置

- ・GC/MS：キャピラリーカラム対応 GC に四重極型、磁場型またはイオントラップ型 MS を連結したもの
- ・SPME ユニット（注4）
- ・SPME ファイバー：Carboxen/ポリジメチルシロキサン 75 µm タイプ。購入後は GC インジェクションポートに挿入して、280℃で 30 分加熱してコンディショニングし、GC/MS 測定において妨害ピークがでないことを確認して使用する。空気中に放置するときは、セプタムに突き刺して空気からの汚染を防止する（注5）。
- ・プレドリル型 GC セプタム（注6）
- ・SPME 用 GC インサート（注7）

- ・バイアル瓶（注8）：テフロン/シリコン製薄型セプタム付きバイアル（容量40 mL）
- ・ODS 又はポリスチレン樹脂充填カートリッジカラム：使用前にアセトン 10 mL と精製水 20 mL で洗浄したもの。

5 試料の採取・運搬

（1）水質試料

水質試料は、500 mL をガラス瓶にいれ、冷蔵状態で梱包して送付する。または、現場で SPME 用バイアル瓶に試料 36 mL を取り（注9）、冷蔵状態で梱包して送付する。

（2）底質試料

底質試料は、40 g 以上（2回分析ができるよう）をガラス瓶にいれ、冷蔵状態でドライアイスとともに梱包して送付する。

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

試料水 36 mL（注10）をセプタム付きバイアル瓶（40 mL）に取り、サロゲート物質及び塩析剤（注11）を添加してスターラーで十分混合溶解する（注12）。次に、SPME ファイバーをバイアル瓶に差し込み、試料中にファイバーを露出させて（注13）スターラーで攪拌しながら1時間抽出する（注14）。抽出後、バイアル瓶からファイバーを抜き精製水で軽く洗浄後（注15）、速やかに GC/MS に導入して2分間以上加熱脱着する。

（イ）底質試料

試料 20 g（湿泥）を 50 mL 共栓付遠沈管にとり、サロゲート物質及び精製水 20 mL を加えて10分間超音波抽出する。抽出後、2000 rpm で10分遠心分離を行い、水層を回収する。同様の抽出操作を計3回を行い、抽出液を合わせ 80 mL 定容にする（注16）。次に、36 mL を分取して、以下水質試料と同様に SPME で抽出後、GC/MS 測定する。

(2) 空試験液の調製

水質及び底質とも精製水 36 mL を用いて試料の前処理に従って操作し、得られた試料を空試験液とする。

(3) 標準液の調製

・対象物質及びサロゲート物質

正確に 100 mg 秤り取り、アセトン（注 1 7）を加えて正確に 100 mL として標準原液とする（1000 mg/L 原液）。検量線作成用混合標準液及び試料添加用サロゲート混合標準液（10 mg/L）は、各標準原液を混合後、精製水で希釈して用時調整する。なお、アセトンで調整した標準原液は暗所-20℃以下、精製水で調製した標準混合液は暗所 4℃で保存する。

(4) 測定

(ア) GC/MS 測定条件の例

- ・カラム：化学結合型溶融シリカキャピラリーカラム 60 m×0.32 mm i.d.（注 1 8）
- ・液相：ポリエチレングリコール 1.0 μm
- ・カラム温度：35℃（5 min）～160℃、10℃/min～240℃、25℃/min（6 min）
- ・注入法：スプリットレス パージオフ時間：2分
- ・注入口温度：240℃
- ・キャリアーガス：He 流量：1.3 mL（定流量モード）
- ・測定イオン：表 3 参照

表 3 測定イオン

物質名	定量イオン (確認イオン)	内標準（注 1 9）
アセトニトリル	41 (40)	アセトニトリル-d ₃
アクリロニトリル	53 (52)	アクリロニトリル-d ₃
メタクリロニトリル	67 (41)	アセトニトリル-d ₃
1-プロパノール	31 (59)	1,4-ジオキサン-d ₈
2-プロパノール	45 (59)	アセトニトリル-d ₃
1-ブタノール	56 (41)	1-ブタノール-d ₉
アリルアルコール	57 (31)	1-ブタノール-d ₉
2-メトキシエタノール	45 (76)	1-ブタノール-d ₉
2-エトキシエタノール	59 (72)	1-ブタノール-d ₉
2-プトキシエタノール	57 (87)	1-ブタノール-d ₉
2-エトキシエチルアセテート	43 (72)	1,4-ジオキサン-d ₈

2-メトキシエチルアセテート	43 (58)	1,4-ジオキサン-d ₈
N,N-ジメチルホルムアミド	73 (44)	1-ブタノール-d ₉
アリルグリシジルエーテル	57 (41)	1-ブタノール-d ₉
1,4-ジオキサン	88 (58)	1,4-ジオキサン-d ₈
ピリジン	79 (52)	ピリジン-d ₅
アクリル酸メチル	55 (85)	アセトニトリル-d ₃
アクリル酸エチル	55 (99)	アセトニトリル-d ₃
アクリル酸ブチル	55 (73)	1,4-ジオキサン-d ₈
アクリル酸 2-ヒドロキシエチル	55 (86)	1-ブタノール-d ₉
エピクロロヒドリン	57 (49)	1-ブタノール-d ₉
ジメチルスルホオキシド	63 (87)	1-ブタノール-d ₉
アジポニトリル	41 (68)	1-ブタノール-d ₉
α-ピコリン	93 (66)	ピリジン-d ₅
β-ピコリン	93 (66)	ピリジン-d ₅
γ-ピコリン	93 (66)	ピリジン-d ₅

(イ) 検量線

精製水にサロゲート混合標準液の一定量と対象物質の混合標準液を段階的に加えて全量を 36 mL とし、以下水質試料と同様に操作して得られた対象物質とサロゲート物質のピーク面積の比から検量線を作成する。

(ウ) 試料液の測定

検量線作成後、空試験液及び測定用試料液の SPME 測定を行う。なお、一定時間毎に検量線の間濃度の標準液を SPME 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、20% を越えていれば、GC/MS を再調整後、検量線を作成し直して測定を行う。

7 同定、定量及び計算

(1) 同定

対象物質（またはサロゲート物質）の定量イオン及び確認イオンのピークが、予想保持時間の ±5 秒以内に出現し、定量イオンと確認イオンのピーク強度比が予想値と ±20 % 以内で一致した場合、物質が存在していると見なす。

(2) 定量及び計算

得られた各対象物質とサロゲート物質とのピーク面積から検量線により検出量を求める。次に、検出量や分析試料量等から、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。

水質試料濃度 (μg/L) = 検出量 (μg) / 試料量 (36 mL) × 1000

底質中濃度 (μg/kg) = (検出量 (μg) × 2.22 (注 80mL 定容として、その内 36 mL を SPME 分析した場合)) / 試料量 (g・乾泥) × 1000

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) 水質試料の添加回収試験結果及び分析法検出下限値

市販のミネラルウォーター (Volvic) 36 mL に対象物質及びサロゲート物質を添加し、塩析剤として食塩及び炭酸カリウムを用いた時の添加回収試験結果を次表に示す。また、次式を用いて求めた分析法検出下限値 (MDL) を表 4 に合わせて示す。

$$MDL = St_{(n-1, 1-\alpha=0.95)}$$

ここで、S は繰り返し試験の標準偏差、n は繰り返し試験回数、 $t_{(n-1, 1-\alpha=0.95)}$ は n-1 における 95%信頼限界でのスチューデント t 値である。

表 4 水質試料の添加回収試験結果及び分析法検出下限値

物質名	添加濃度 μg/L	食塩	炭酸カリウム
		MDL, μg/L	MDL, μg/L
アセトニトリル	5	2.1	0.62
アクリロニトリル	0.1	0.07	0.03
メタクリロニトリル	0.1	0.05	0.06
1-プロパノール	1	0.19	0.67
2-プロパノール	5	1.4	2.2
1-ブタノール	1	0.17	0.35
アリアルアルコール	0.1	0.05	0.07
2-メトキシエタノール	5	1.9	1.6
2-エトキシエタノール	5	1.4	1.4
2-ブトキシエタノール	0.1	0.04	0.10
2-エトキシエチルアセテート	0.1	0.03	NR
2-メトキシエチルアセテート	0.1	0.02	NR
N,N-ジメチルホルムアミド	5	1.9	1.6
アリルグリシジルエーテル	1	0.23	0.37
1,4-ジオキサン	5	0.84	1.1
ピリジン	0.1	0.02	0.03

アクリル酸メチル	0.1	0.05	NR
アクリル酸エチル	0.1	0.04	NR
アクリル酸ブチル	0.01	0.002	NR
アクリル酸 2-ヒドロキシエチル	5	2.0	NR
エピクロロヒドリン	1	0.19	0.50
ジメチルスルホオキシド	1	0.88	0.61
アジポニトリル	5	1.3	2.3
α -ピコリン	0.1	0.02	0.04
β -ピコリン	0.1	0.02	0.04
γ -ピコリン	0.1	0.02	0.04

NR：回収せず

*：アリルアルコールは、SPME ファイバーから妨害ピークがでるため、微量分析が困難な恐れがある。

(注2) 例 Volvic。Volvic からは、アクリル酸エチル、アクリロニトリル、アセトニトリル、アリルアルコール、1-ブタノール、2-メトキシエタノール、ピリジン、 α - β - γ -ピコリン、2-エトキシアセテート、2-ブトキシエタノール及びアジポニトリルが検出された。

(注3) 炭酸カリウムの抽出率は、一部の物質で食塩に比較して数～数十倍良いが、アルカリ性であるためにエステル類などアルカリで不安定な物質の測定はできない。また、内標準を用いれば補正は可能であるが、抽出率が不安定なため、絶対検量線の作成は困難である。

(注4) シグマアルドリッチジャパン社製 SPME ユニット (備考2)。使用法の詳細は、シグマアルドリッチジャパン社のマニュアルを参照すること。

(注5) シグマアルドリッチジャパン社製 Carboxen/ポリジメチルシロキサン (75 μ m) ファイバー (備考2)。使用法の詳細は、シグマアルドリッチジャパン社のマニュアルを参照すること。ファイバーの使用可能回数は、塩析剤により異なる。食塩では数十回使用できるが、炭酸カリウムでは10～20回程度しか使用できない。サロゲート物質のピーク強度を確認しておき、ピーク強度が大きく低下し出したらファイバーを交換する。

(注6) シグマアルドリッチジャパン社製のサーモグリーンセプタム (備考2)。SPMEの針をGC注入口に挿入する時に、セプタムくずが針穴に巻き込まれないよう予め下穴を開けたセプタム。穴からキャリアガスが漏れることがあるので注意が必要である。

(注7) 使用するGC機種用にシグマアルドリッチジャパン社から販売されているインサ

ート（備考2）。SPME法において、シャープなピークが得られるよう内径をせばめたインサート。

（注8）試料量が多いほど感度が向上する。

（注9）塩析剤は、予めバイアル瓶に塩を入れておく。また、トラベルブランクを取ること。

（注10）通常はODSカートリッジカラム等に通水する必要はないが、疎水性物質等が大量に含まれている場合などは、通水して除去するとよい。無機質の懸濁物質が多い試料では、ガラス繊維フィルターでろ過しても良い。

（注11）食塩、炭酸カリウムなどが使用できる。炭酸カリウム溶液はアルカリ性であるため、アクリル酸エステルや酢酸エステルなどアルカリで不安定な物質は測定できないが、DMSOなどでは食塩に比べて抽出量が数～10倍程度増加する。

（注12）スターラーの回転数は、抽出量に影響を与えるため、検量線を含め回転数を同一にする。

（注13）ファイバーホルダーが試料に浸からないようにする。試料に浸かった場合は、塩が析出してファイバーを破損することがある。

（注14）抽出量は抽出時間に比例するため、濃度が高いことが予想される場合は、抽出時間を短縮してもよい。その場合は、検量線も同一抽出時間で作成する。

（注15）炭酸カリウムを用いる場合は、超音波洗浄器を用いて10～20秒洗浄する。但し、超音波振動の激しい機種は、固相がはがれる恐れがあるため使用しない。

（注16）抽出回数が増す毎に遠心分離でも沈殿しない微粒子が増えるが、SPME抽出の障害とはならない。

（注17）精製水で調製しても良い。但し、アセトン中より分解が速いので注意が必要である。

（注18）プレカラムとして不活性処理済みの溶融シリカカラム 1 m×0.25 mm i.d.を接続する。

（注19）使用するサロゲートの中で検量線の直線性がさらに良い物質があれば、ここに示す内標準の代わりに内標準として使用しても良い。

（備考1）実際の河川水及び海水を用いた添加回収試験の結果は次の通りである。

表5 河川水及び海水の添加回収試験結果

物質名	添加濃度 μg/L	河川水			海水		
		無添加	添加1	添加2	無添加	添加1	添加2
2-プロパノール	5	ND	9.04	8.12	0.43	6.98	9.90
アクリル酸メチル	0.1	0.04	0.19	0.15	0.05	0.10	0.20
メタクロニトリル	0.1	ND	0.14	0.11	ND	0.08	0.13
アクリル酸エチル	0.1	0.01	0.14	0.12	0.01	0.08	0.13
アクリロニトリル	0.1	0.26	0.38	0.46	0.47	0.52	0.49
アセトニトリル	5	2.96	9.11	9.94	4.25	9.52	11.90
1-プロパノール	無添加	ND	-	-	ND	-	-
1,4-ジオキサン	5	ND	5.97	4.69	ND	4.81	5.57
アリアルコール	無添加	ND	-	-	ND	-	-
1-ブタノール	1	7.04	5.23	5.42	5.77	4.95	6.51
アクリル酸ブチル	0.01	ND	0.01	0.01	ND	0.01	0.01
2-メキシエタノール	無添加	検出	-	-	検出	-	-
ピリジン	0.1	0.13	0.28	0.28	0.19	0.34	0.46
エピクロヒトリン	1	ND	1.04	0.88	ND	0.90	0.90
2-エトキシエタノール	無添加	ND	-	-	ND	-	-
α-ピコリン	0.1	ND	0.13	0.13	0.01	0.13	0.11
β-ピコリン	0.1	0.01	0.12	0.11	0.02	0.11	0.10
γ-ピコリン	0.1	ND	0.11	0.10	0.01	0.10	0.08
2-メキシエチルアセテート	0.1	ND	0.10	0.18	ND	0.16	0.16
2-エトキシエチルアセテート	0.1	ND	0.13	0.21	ND	0.16	0.20
アリルグリシジルエーテル	1	ND	0.90	0.83	ND	0.89	0.88
N,N-ジメチルホルムアミド	5	1.28	4.94	4.56	1.57	5.13	4.63
2-プロトキシエタノール	0.1	0.16	0.10	0.10	0.21	0.17	0.22
DMSO	無添加	検出	-	-	検出	-	-
アクリル酸 2-ヒドロキシエチル	5	ND	3.43	3.44	ND	4.09	3.92
アジポニトリル	無添加	検出	-	-	検出	-	-

(備考2) ここに示す商品は、SPME に関するものを除き、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ものであり、これを推奨するものではない。これと同等以上の品質、性能を用いるものを用いてもよい。

参考文献

- 1) 門上希和夫, 佐藤健司, 岩村幸美, 花田喜文: 固相マイクロ抽出/ガスクロマトグラフィー/質量分析法による水環境中の水溶性アルコールの定量, 分析化学, **45**, 1013-1018 (1996)
- 2) シグマアルドリッチジャパン(株): SUPELCO クロマトグラフィー製品カタログ GC・LC 用試料調製 (1999)

分析法フローチャート

水質試料



塩析剤, サロゲート添加^注

注：底質試料では、サロゲートは底質に添加する。

底質試料

