

## 報 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門上希和夫<sup>®\*</sup>, 佐藤 健司<sup>\*,\*\*</sup>, 岩村 幸美<sup>\*</sup>, 花田 喜文<sup>\*</sup>Determination of hydrophilic alcohols from aquatic environment  
by solid-phase microextraction and GC/MSKiwao KADOKAMI, Kenji SATO, Tomomi IWAMURA and Yoshifumi HANADA<sup>\*</sup><sup>\*</sup>Kitakyushu City Institute of Environmental Sciences, 1-2-1, Shin-ike, Tobata-ku,  
Kitakyushu-shi, Fukuoka 804

(Received 6 June 1996, Accepted 23 July 1996)

The authors have developed an analytical method for hydrophilic alcohols, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, 2-butanol and *tert*-butanol, in water and sediment samples by solid-phase microextraction coupled with GC/MS. Extraction efficiencies of the alcohols from water were dramatically improved by adding potassium carbonate as a salting-out reagent. The mean recovery of the alcohols from water at concentrations of 15 to 1.0  $\mu\text{g}/\text{l}$  was 94%, and the mean relative standard deviation was 12%. The detection limits of the alcohols ranged from 0.63 to 4.3  $\mu\text{g}/\text{l}$ . In order to analyze sediment samples, the alcohols were first extracted with water and the following procedures were carried out in the same manner as for water samples. The mean recovery of the alcohols from sediment samples at 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  was 94%, and the mean relative standard deviation was 21%. The detection limits of the alcohols ranged from 6.9 to 84  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (wet). Analysis of real environmental samples from a sea sediment detected 1-propanol and 2-propanol at 140 and 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (dry), respectively.

**Keywords** : solid-phase microextraction; SPME; hydrophilic compounds; alcohol; environmental sample.

## 1 緒 言

化学物質の生産量及び種類の急速な増加に伴い、化学物質による環境汚染が重要な環境問題の一つとなり国際的な関心が寄せられている<sup>1)</sup>。そのため、多数の化学物質を対象に環境汚染実態調査が精力的に実施され、その

汚染実態が明らかにされつつある<sup>2)</sup>。しかし、従来の調査対象は主として疎水性の化学物質であった。その理由は、これらの化学物質は環境中で極低濃度でも、生物濃縮により食物連鎖を通して上位生物に悪影響を与えやすく、更に試料からの分離濃縮が簡単であり、分析が比較的容易であることが挙げられる。一方、水からの分離濃縮が困難な水溶性の化学物質は、極低濃度の分析が困難であるため、現在までほとんど環境調査の対象とされなかった。このため著者らは、活性炭を用いて水溶性物質を水から抽出し、分析する方法を開発してきた<sup>3)~5)</sup>。

\* 北九州市環境科学研究所: 804 福岡県北九州市戸畑区新池 1-2-1

\*\* 現在 環境庁企画調整局環境影響評価課: 100 東京都千代田区霞ヶ関 1-2-1

Table 1 Gas chromatographic/Mass spectrometric conditions for determination of the target alcohols

Column	DB-WAX fused silica capillary column, 50 m × 0.32 mm i.d., 1.0 μm film; precolumn: deactivated fused silica tubing, 1 m × 0.25 mm i.d.
Temperature	
Column	temperature programmed from 35°C (2 min) to 150°C (5 min) at the rate of 10°C/min
Injector	250°C
Inlet	200°C
Ion source	200°C
Injection method	splitless, 3 min for purge-off time
Carrier gas	He, column head pressure of 60 kPa
Ionization method	EI
Ionization energy	70 eV
Ionization current	300 μA
Switching rate	0.1 s/ion
Ions measured for quantitation	
	1-Propanol: 31.0 (59.0, 42.0, 60.1), 2-Propanol: 45.0 (59.0, 31.0), 1-Butanol: 56.1 (57.1, 43.1), 2-Butanol: 31.0 (59.0, 45.0), <i>tert</i> -Butanol: 59.0 (60.1, 41.0), 1-Butanol- <i>d</i> <sub>9</sub> : 64.1 (46.1)

Mass numbers in the parentheses are ions used for confirmation.

しかし、既報の分析法<sup>4)</sup>では、本報で対象とした化学物質のうち、1-プロパノールの回収率が50%以下と低く、又GC測定において2-プロパノールと*tert*-ブタノールのピークがジクロロメタンと重なり測定できなかった。更にこの方法では、発がん性のジクロロメタンを溶離液として使用するため、作業環境の安全確保及び環境保全上の問題が残されていた。

最近、カナダで開発された固相抽出法の一つである固相マイクロ抽出法 (solid-phase microextraction, SPME) は、有機溶媒を全く使用しない手軽で簡便な分析法であり、多くの報告がされている<sup>6)7)</sup>。しかし、報告の大半はSPMEの開発者によるものであり、実際の環境試料分析に適用した報告は少ない<sup>8)~10)</sup>。今回著者らは、水質試料からの水溶性物質の抽出にSPME法を採用し、水環境中の5種類の水溶性アルコールを正確、高精度、かつ高感度に測定する方法を開発した。

## 2 実験方法

### 2.1 装置及び器具

SPME抽出器具は、シグマアルドリッチジャパン製のSPMEホルダーに、85 μm ポリアクリレートタイプファイバーを装着して使用した。購入したファイバーは、GC注入口に差し込み、ヘリウムを流しながら300°Cで5時間以上加熱し、GC/MS測定において妨害ピークが出ないことを確認して使用した。Sep-Pak C<sub>18</sub>カートリッジ (日本ウオーターズ製) は、使用前に残留農薬分析用メタノール10 mlと精製水20 mlを流してコンディショニングを行った。GC/MS装置は、日本電

子製DX303型のMSに、Hewlett-Packard製5890J型のGCを連結したものを使用し、定量は選択イオン検出法 (SIM) により行った。

### 2.2 試薬

1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール及び*tert*-ブタノールは、試薬特級をそのまま使用した。内標準物質の1-ブタノール-*d*<sub>9</sub>は、Cambridge Isotope Laboratories製のものをを用いた。各標準原液 (1 mg/ml) は、試薬をそれぞれ100 mg精ひょうし、精製水100 mlに別々に溶解して調製した。混合標準液は、各標準原液を精製水により適宜希釈混合し、所定の濃度の混合標準液を調製した。内標準溶液は、標準原液 (1 mg/ml) を精製水で希釈して10 μg/ml溶液を調製した。炭酸カリウムは、試薬特級を600°Cで8時間加熱後、放冷して使用した。精製水は、蒸留-イオン交換-ミリQ処理した水を活性炭 (ジーエルサイエンス製, Activated Carbon Beads M) に通水して使用した。

### 2.3 分析操作

水質試料20 mlに内標準溶液50 μlを添加後、Sep-Pak C<sub>18</sub>カートリッジに通水し、セプタム付きバイアル瓶に受けた。これに炭酸カリウム22 gを加えてかき混ぜ機で十分混合溶解した。次に、SPMEファイバーを試料水に浸し、かき混ぜ機でかき混ぜながら40分間分配抽出した。抽出後、ファイバーをバイアル瓶から引き抜き、精製水で軽く洗浄した後、速やかにGC注入口に挿入しGC/MS測定を行った。

底質試料は, 湿泥 5 g を 50 ml 共栓付き遠沈管に採り, 内標準溶液 50  $\mu$ l と精製水 10 ml を加えて 10 分間振り混ぜて抽出後, 2500 rpm で 10 分遠心分離を行い水相を回収した. この抽出操作を 2 回繰り返して, 得られた抽出液を合わせ Sep-Pak C<sub>18</sub> カートリッジに通水した後, 以下水質試料と同様に操作した.

定量は, 別に作成した検量線を用い, 内標準法によって行った. GC/MS 測定条件及び SIM において測定したイオン質量を Table 1 に示す.

#### 2.4 検量線の作成

精製水に混合標準液の 0~1 ml を段階的に添加して全量を 20 ml とし, 以下水質試料と同様に操作して得られた標準物質と内標準物質とのピーク面積比から作成した. 1~50  $\mu$ g/l の範囲で作成した検量線の相関係数は 0.987~0.996 であり, 良い直線性を示した.

### 3 結果及び考察

#### 3.1 GC 条件の検討

キャピラリー GC を用いて環境試料中の極微量の有機物を定量するためには, 一般にスプリットレス注入法が用いられる. スプリットレス法では, 気化室で気化した試料ガスは速やかにカラムの中に入りきれず, 定量性のあるシャープなピークを得るために, 溶媒効果とコールドトラップを利用してカラムの先端に再濃縮する必要がある. しかし, SPME 法では溶媒を使用しないため溶媒効果は期待できない. 更に対象としたアルコールの沸点は 82~118°C と低く, コールドトラップ効果を利用するにはカラムの初期温度を相当に下げることがある. そこで初期温度を特別な冷却装置を用いずに得られる最低温度の 35°C とし, 種々のカラムを検討した. その結果, 高極性液相であるポリエチレングリコール系の高膜厚 (1  $\mu$ m) カラムにリテンションギャップ用の不活性カラムを接続することにより, 良好なピーク形状を得ることができた.

#### 3.2 抽出時間の検討

SPME 法は水相と固相との分配平衡により対象物質を水から抽出する方法であり, 固相に移行する対象物質量は次式によることが報告されている<sup>7)</sup>.

$$n_s = KV_s V_{aq} C_{aq}^0 / (KV_s + V_{aq}) \quad (1)$$

ここで,  $n_s$  は対象物質のファイバーへの抽出量,  $K$  は対象物質の水と固相間の分配係数 (固相中濃度/水中濃度),  $V_s$  は固相の体積,  $V_{aq}$  は試料水の体積,  $C_{aq}^0$  は試

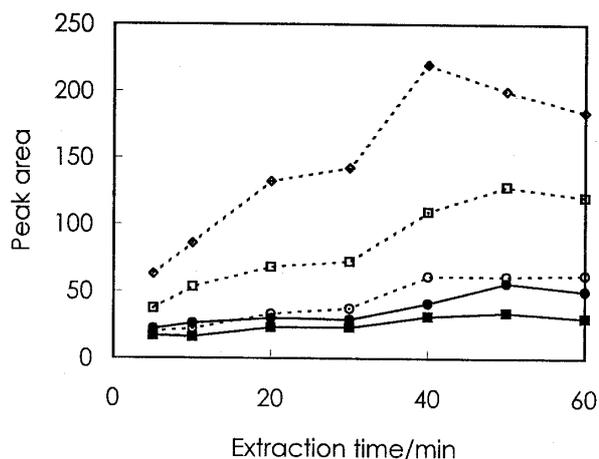


Fig. 1 Effect of extraction time on peak areas of the target alcohols

The alcohols (50  $\mu$ g/l each) were extracted by SPME and desorbed in a GC injection port at 250°C for 5 min. ●: 1-Propanol; ■: 2-Propanol; ◇: 1-Butanol; □: 2-Butanol; ○: tert-Butanol

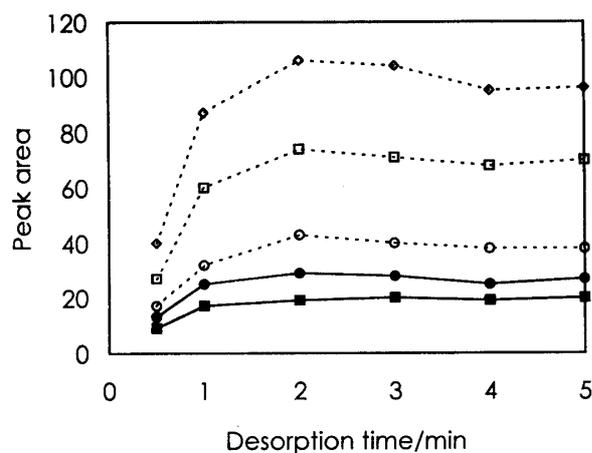
料水中の対象物質の初期濃度である.

今回対象としたアルコール類は水に易溶であるため, 分配係数  $K$  は非常に小さいと予想され, 更に  $V_s$  は  $V_{aq}$  に比較し圧倒的に小さい. 従って, 式(1)において  $KV_s + V_{aq} = V_{aq}$  と仮定され, 式(1)は次式のように簡略化される.

$$n_s = KV_s C_{aq}^0 \quad (2)$$

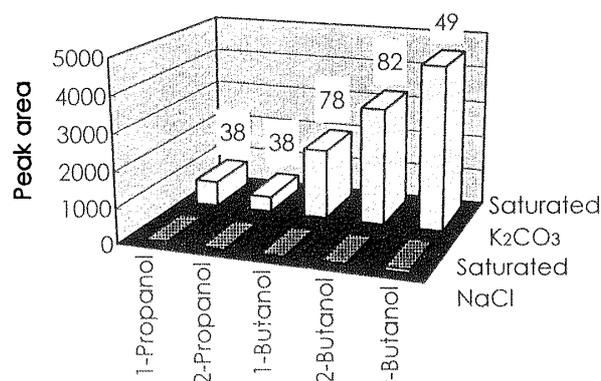
検出限界を小さくするには,  $n_s$  をできるだけ大きくしなければならず, そのためには式(2)から  $K$  と  $V_s$  を大きくする必要がある. そこで今回の実験では, 市販されている固相ファイバーの中で極性物質に最も親和力 ( $K$ ) が大きく, 高膜厚 ( $V_s$  大) のポリアクリレートファイバー (85  $\mu$ m) を採用した.

$n_s$  をできるだけ大きくするには, 平衡に達するまで抽出する必要がある. 更に平衡まで抽出することにより, 抽出のばらつきを抑えることもできる. そこで, 最適抽出時間の検討を行った. 検討は精製水 20 ml に 1 mg/ml の標準混合溶液 100  $\mu$ l と塩化ナトリウムを 7 g 添加して, SPME ファイバーを所定時間浸した後, GC-水素フレイムイオン化検出器 (FID) で測定した. その結果を Fig. 1 に示す. 試料中に 40 分間ファイバーを露出させることで抽出平衡に達した.



**Fig. 2** Effect of thermal desorption time on peak areas of the analytes

The alcohols (50  $\mu\text{g/l}$  each) were extracted by SPME for 40 min and desorbed in a GC injection port at 250°C. ●: 1-propanol; ■: 2-propanol; ◇: 1-butanol; □: 2-butanol; ○: *tert*-butanol



**Fig. 3** Comparison of salt-out effect of NaCl to that of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

The figure over the column of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> shows the ratio of peak areas of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> to NaCl. The alcohols (50  $\mu\text{g/l}$  each) in solutions saturated with each salt were extracted by SPME for 40 min and desorbed in a GC injection port at 250°C for 3 min.

**Table 2** Overall recoveries(%) of the target alcohols from water and sediment samples

Sample	Sample volume	1-Propanol		2-Propanol		1-Butanol	
		Spiked amounts/ $\mu\text{g}$	Recovery (RSD)	Spiked amounts/ $\mu\text{g}$	Recovery (RSD)	Spiked amounts/ $\mu\text{g}$	Recovery (RSD)
Purified water	20 ml	0.1	100 (12.9)	0.1	90.0(19.0)	0.02	80.0(22.5)
		0.2	92.3( 5.8)	0.2	84.1(13.9)	0.04	94.9(14.6)
		0.3	97.9( 1.3)	0.3	88.4(13.8)	0.06	99.3(15.8)
River water	20 ml	0.4	95.2(10.5)	1.4	86.9( 5.6)	0.4	95.6(10.3)
Seawater	20 ml	0.4	89.5( 5.6)	1.4	90.3( 8.9)	0.4	92.2( 9.8)
Sediment	5 g(wet)	0.2	76.0(22.5)	0.7	104 (18.3)	0.2	105 (27.2)

Sample	Sample volume	2-Butanol		<i>tert</i> -Butanol	
		Spiked amounts/ $\mu\text{g}$	Recovery (RSD)	Spiked amounts/ $\mu\text{g}$	Recovery (RSD)
Purified water	20 ml	0.02	99.8(13.8)	0.02	90.1(15.3)
		0.04	99.4( 6.8)	0.04	91.1( 6.5)
		0.06	96.3( 7.0)	0.06	104 ( 4.3)
River water	20 ml	0.2	84.3(12.3)	0.2	98.5(11.3)
Seawater	20 ml	0.2	95.3( 5.6)	0.2	95.2( 8.8)
Sediment	5 g(wet)	0.1	85.7(12.8)	0.1	96.9(23.5)

Water sample:  $n=4$ . Sediment sample:  $n=7$ .

Overall recoveries of water samples do not mean extraction efficiencies by SPME; overall recoveries are calculated by using calibration curves made in the same manner as for water samples.

### 3.3 GC 注入口温度と脱着時間の検討

SPME 法は加熱脱着により試料を GC カラムへ導入するため、GC 注入口温度と加熱脱着時間が検出感度及

び再現性に影響を与える。そこで脱着時間を 5 分に固定し、150~300°C の範囲で注入口温度を変えて、“抽出時間の検討”と同様に操作して対象物質のピーク面積を

測定した. その結果, 250°C 以上でピーク面積が最大となった.

次に注入口温度を 250°C に固定し, 30 秒から 5 分の間で最適脱着時間の検討を行った. その結果を Fig. 2 に示すが, 2 分以上で一定のピーク面積が得られた.

### 3・4 塩析剤の検討

化学物質の水からの抽出率向上には, 塩化ナトリウム添加による塩析が一般に用いられる. そこでまず塩化ナトリウムの塩析効果を調べた. 実験は“抽出時間の検討”と同様な条件で行った. その結果, 5 物質とも塩化ナトリウム飽和下で最も高い抽出率を示した. しかし, この条件でも検出限界は 0.1 µg/ml 以上と大きく, 環境試料の分析には不十分であった. そこで塩化ナトリウムに代わる塩析剤の検討を行った. 対象物質は, 溶剤や各種製品に含まれ一般実験室でもよく使用されるため, 汚染を受ける可能性が非常に高い. 実際に水溶解度の高い硫酸アンモニウムなどの塩を精製処理をしないでそのまま使用した場合, 妨害のために測定が困難であった. そこで塩析剤には, 汚染や他の妨害物質を除去するための精製処理が必要であり, 精製操作として最も有効かつ簡便な高温処理ができる炭酸カリウムを検討した. 炭酸カリウムと塩化ナトリウムをそれぞれ飽和量添加したときのピーク面積値を Fig. 3 に示す. 炭酸カリウムを飽和量添加することで, 塩化ナトリウムに比べ抽出率が 40~80 倍向上することが分かった.

### 3・5 低濃度添加回収試験

精製水及び実際の環境水と海域底質を用いた低濃度での添加回収試験結果を Table 2 に示す. なお本法における回収率とは, 精製水に対象物質を添加して作成した検量線に対する比のことである. 水質試料については, 実際の環境水でもほぼ良好な回収率及び相対標準偏差が得られた. 水試料に SPME ファイバーを直接浸す方法は, 比較的清浄な試料にしか適用できないと言われている<sup>7)</sup>が, 本報の対象物質は水溶性物質であるため試料に含まれる浮遊物質の影響はほとんどなかった. 底質試料は各物質とも多少ばらついた結果となった. これは, 底質から精製水を用いて対象物質を抽出するときのばらつきによるものと考えられる.

次に添加回収試験の結果を用いて, 次式に示す米国の Standard Methods の方法<sup>11)</sup>により検出限界値 (MDL) を求めた. これは 99% の確率でゼロとは異なる値を MDL とするものである.

Table 3 Method detection limits (MDL) for water and sediment samples

Compound	MDL for water/µg l <sup>-1</sup>	MDL for sediment/µg kg <sup>-1</sup> , wet
1-Propanol	2.9	22
2-Propanol	4.3	84
1-Butanol	1.0	36
2-Butanol	0.63	6.9
tert-Butanol	0.69	14

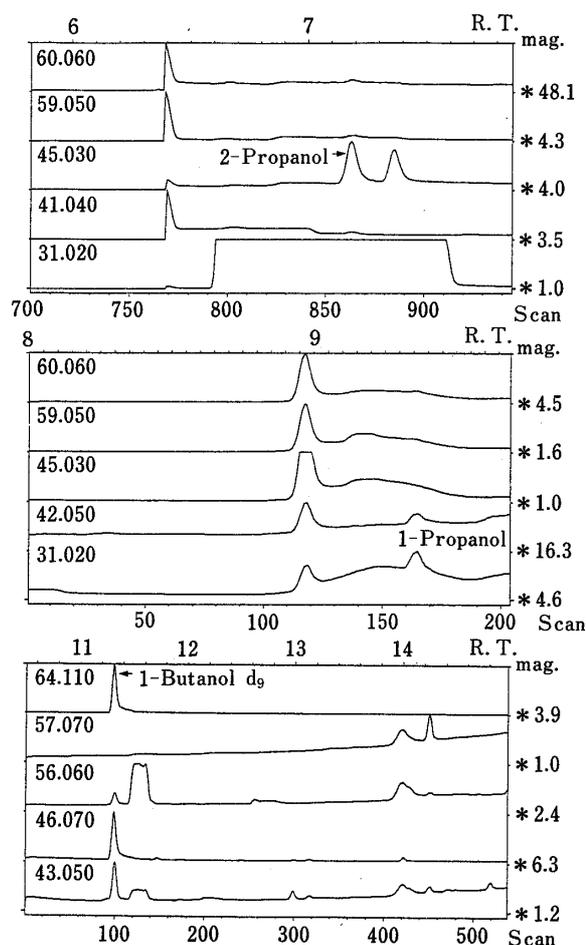


Fig. 4 SIM chromatograms of a sea sediment sample taken from the Strait of Kanmon

The arrow indicates the peak position of each compound.

$$MDL = St(n-1, 1-\alpha = 0.99)$$

ここで,  $S$  は  $n$  回の繰り返し分析における標準偏差,  $t(n-1, 1-\alpha = 0.99)$  は自由度  $n-1$ , 信頼度 99% での学生 t 値である. その結果を Table 3 に示す.

### 3・6 実試料への適用

本分析法を用いて北九州地域の河川水、海水及び海域底質の分析を行った。その結果、水試料から 1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール及び *tert*-ブタノールのピークが検出されたが、それらはいずれも検出限度未満であった。しかし、海域底質からは Fig. 4 に示すように 1-プロパノール及び 2-プロパノールが、乾重量当たりそれぞれ 140, 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  検出された。

1-プロパノール及び 2-プロパノールは、溶剤や各種合成原料として使用され、又動植物による生合成も報告されている<sup>12)13)</sup>。著者らが活性炭抽出法を用いて行った環境調査では、1-プロパノールが数百  $\text{ng}/\text{l}$  のレベルで海水や河川水から検出されており<sup>14)</sup>、底質中の濃度はそれに比べ数百倍程度であった。以上のことから、これらの水溶性アルコールは生分解性が高いものの発生源が多いため、水環境中に広く存在していると推定される。

本分析法の検出限界は、従来の方法<sup>4)</sup>に比べ若干高いものの、有害な有機溶媒を使用しない、操作が簡便であるなどの長所を備えており、分子量の小さい水溶性化学物質の分析に有効であると考えられる。

本研究は、平成 6 年度化学物質分析法開発調査として、環境庁環境保健部環境安全課からの委託を受けて実施したものである。

(1995 年 9 月, 日本分析化学会第 44 年会で一部発表)

### 文 献

- 1) 環境庁及び外務省監訳: “アジェンダ 21—持続可能な開発のための人類の行動計画”, p. 288

- (1993), (海外環境協力センター).
- 2) 環境庁環境保健部環境安全課: “化学物質と環境”, 平成 7 年版, (1995), (環境庁).
- 3) 門上希和夫, 篠原亮太: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **35**, 875 (1986).
- 4) K. Kadokami, M. Koga, A. Otsuki: *Anal. Sci.*, **6**, 843 (1990).
- 5) 山本理香, 門上希和夫, 石川精一, 城戸浩三: 日本分析化学会第 40 年会講演要旨集, p. 163 (1991).
- 6) C. L. Arthur, J. Pawliszyn: *Anal. Chem.*, **62**, 2145 (1990).
- 7) Z. Zhang, M. J. Yang, J. Pawliszyn: *Anal. Chem.*, **66**, 844A (1994).
- 8) 安藤 良, 渡辺正敏, 松井義雄, 伊藤英一: 用水と廃水, **37**, 212 (1995).
- 9) J.-Y. Horng, S.-D. Huang: *J. Chromatogr. A*, **678**, 313 (1994).
- 10) R. Eisert, K. Levsen, G. Wunsch: *J. Chromatogr. A*, **683**, 175 (1994).
- 11) A. D. Eaton, L. S. Clesceri, A. E. Greenberg (Ed.): “*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*”, 15th ed., p. 1 (1995), (American Public Health Association, Washington, D.C.).
- 12) P. H. Howard (Ed.): “*Handbook of Environmental FATE and EXPOSURE DATA for Organic Chemicals Vol. II*”, p. 304 (1990), (Lewis Publishers, Chelsea).
- 13) P. H. Howard (Ed.): “*Handbook of Environmental FATE and EXPOSURE DATA for Organic Chemicals Vol. II*”, p. 380 (1990), (Lewis Publishers, Chelsea).
- 14) 門上希和夫, 佐藤健司, 古賀 実: 環境化学, **3**, 15 (1993).

### 要 旨

固相マイクロ抽出/GC/MS を用いて水質及び底質中の 1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール及び *tert*-ブタノールの分析法を開発した。水試料は、塩析剤として炭酸カリウムを加え、ファイバーを直接浸して対象物質を抽出し、GC/MS-SIM で測定した。1.0~15  $\mu\text{g}/\text{l}$  の添加回収試験結果は、回収率の平均が 93.6%, 相対標準偏差の平均が 11.6% であった。又、検出限界は 0.63~4.3  $\mu\text{g}/\text{l}$  であった。底質試料は精製水を加えて抽出後、水試料と同様に分析した。20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  の添加回収試験結果は、平均回収率が 93.5% であり、相対標準偏差が 20.9% であった。検出限界は 6.9~84  $\mu\text{g}/\text{l}$  であった。本法により実際の環境試料を分析した結果、海域底質から 1-プロパノール及び 2-プロパノールが、乾重量当たりそれぞれ 140, 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  検出された。